



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES
RENOVABLES

**EFFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE *Atelopus* sp. (complejo
spumarius) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE
CONSERVACIÓN *EX SITU***

**PLAN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

AUTORA

JESSICA JOHANA HUERA CABASCANGO

DIRECTOR

MVZ. TITO JORGE MENDOZA CADENA MSc.

IBARRA - ECUADOR

2019

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES
RENOVABLES

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE
**"EFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE *Atelopus* sp. (complejo
spumarius) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE
CONSERVACIÓN *EX SITU*"**

Trabajo de titulación revisado por el Comité Asesor, previa a la obtención del

Título de:

INGENIERA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

APROBADA

MSc. Tito Mendoza

DIRECTOR

MSc. Mónica León

ASESORA

MSc. Sania Ortega

ASESORA

PhD. Ali Moncada

ASESOR

.....
DATOS DE CONTACTO

IDENTIDAD

APellidos y Nombres

.....
Mantuela - Asenjo

.....
Eduardo@uninorte.edu.ec

.....
TELÉFONO Fijo

.....
TELÉFONO Móvil

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

IBARRA – ECUADOR

SEPTIEMBRE, 2019



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN
A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	100378544-9		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Huera Cabascango Jessica Johana		
DIRECCIÓN:	Antonio Ante – Natabuela		
EMAIL:	jjhuerac@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:		TELÉFONO MÓVIL:	0998168975

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	EFFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN <i>EX SITU</i>
AUTOR (ES):	Huera Cabascango Jessica Johana
FECHA:	10 de septiembre de 2019
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera en Recursos Naturales Renovables

ASESOR /DIRECTOR:	MVZ. Tito Jorge Mendoza Cadena MSc.
------------------------------------	-------------------------------------

2. CONSTANCIAS

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 10 días del mes de septiembre de 2019

LA AUTORA



Huera Cabascango Jessica Johana

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, HUERA CABASCANGO JESSICA JOHANA, con cedula de identidad Nro. 1003785449; manifiesto la voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, Artículos 4, 5 y 6, en calidad de autora de la obra de trabajo de grado denominada **EFFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN *EX SITU***, que ha sido desarrollada para optar por el título de Ingeniera en Recursos Naturales Renovables en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega en formato impreso y digital a la biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

AUTORA

huera, 17 de septiembre de 2019

DIRECTOR



AUTORA

Huera Cabascango Jessica Johana

C.I. 100378544-9

MSc. Tito Mendieta

Huera Cabascango Jessica Johana

REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

Guía: FICAYA-UTN

Fecha: 17 de septiembre de 2019

JESSICA JOHANA HUERA CABASCANGO

EFFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN *EX SITU*

TRABAJO DE GRADO

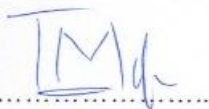
Ingeniera en Recursos Naturales Renovables, Universidad Técnica del Norte, Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables, Ibarra, 17 de septiembre de 2019.

DIRECTOR: MSc. Tito Mendoza

El objetivo de esta investigación evaluó el efecto de dos dietas en el desarrollo de renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) en laboratorio para generar estrategias de conservación *ex situ* en el manejo de la especie. De acuerdo con lo mencionado este estudio planteó dietas para mejorar el desarrollo y supervivencia de los individuos en etapa larval.

Ibarra, 17 de septiembre de 2019

DIRECTOR



MSc. Tito Mendoza

AUTORA



Huera Cabascango Jessica Johana

AGRADECIMIENTOS

Agradeciendo en primer lugar a mi familia, mis padres y hermanos, porque con su apoyo y paciencia llegue a culminar una meta en mi vida.

Agradezco al Biol. Renato Oquendo MSc. quien fue mi tutor desde el inicio de mi trabajo de titulación y que por asuntos de fuerza mayor no pudo estar presente hasta el final de mi investigación.

Igualmente, el agradecimiento a cada uno de mis asesores por sus orientaciones en el transcurso del trabajo de titulación.

Agradezco al PhD. Luis Coloma director del Centro Jambatu de Investigación y Conservación de Anfibios y cada uno de los miembros del laboratorio, por depositar su apoyo pleno en la realización de la investigación en pro de la conservación de las especies anfibias.

Gracias a mis amigos por estar apoyándome en el transcurso de la investigación.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos que siempre han estado apoyando para cumplir con mis sueños. Esto es por ustedes y para ustedes. Los amo incondicionalmente.

Jessica Huera

ÍNDICE DE CONTENIDO

Contenido	Páginas
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo general	3
1.1.2 Objetivos específicos	3
1.2 Pregunta directriz de la investigación o hipótesis	3
CAPÍTULO II	4
MARCO REFERENCIAL	4
2.2 Técnicas de conservación.....	4
2.2.1 Conservación <i>ex situ</i>	4
2.3 Conservación de los anfibios	5
2.3.1 Manejo en laboratorio de los anfibios	6
Selección de la especie.....	6
Ciclo evolutivo	7
Indicadores de desarrollo en renacuajos	8
Factores ambientales y parámetros de calidad del agua.....	9
Dieta en renacuajos	10
Nutrientes	12
2.3.2 Bioensayo	13
2.3.3. Fórmula alimenticia enriquecida para criar renacuajos en laboratorio	13
2.4 Marco legal.....	14
2.4.1 Constitución de la República del Ecuador	14

2.4.2	Convenio sobre la Diversidad Biológica	15
2.4.3	Código Orgánico del Ambiente	15
2.4.4	La Ordenanza Municipal para declarar a <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>) como especie emblemática del cantón Limón Indanza y proteger sus poblaciones remanentes y hábitat (2011).....	16
	CAPÍTULO III.....	18
	METODOLOGÍA	18
3.1	Hábitat natural de la especie <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).....	18
3.2	Área de experimentación para la conservación <i>ex situ</i> de la especie.....	19
3.3	Métodos.....	20
3.3.1	Comparación del desarrollo de los renacuajos de <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>) sometidos a las dietas de <i>Spirulina</i> y <i>Taraxacum officinale</i>	20
	Adecuar el área de crecimiento de los individuos en estadio larval	20
	Seleccionar los individuos para el ensayo.....	21
	Determinar la cantidad de alimento	22
	Elaborar pasta de alimento	22
	Alimentar al renacuajo con pasta	23
	Mantenimiento de los contenedores.....	24
	Obtención de datos de los parámetros fisicoquímicos del agua.....	24
	Medición y pesaje de los individuos	25
	Análisis cuantitativo de los datos recopilados	25
3.3.2	Comparación de los valores nutricionales de las dietas con el desarrollo de los renacuajos de <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>)	26
	Humedad (AOAC 925.10)	26
	Cenizas (AOAC 923.03)	27
	Proteína Total (AOAC 920.87)	27
	Grasa (AOAC 920.85)	28
	Fibra Total (AOAC 978.10).....	29
	Análisis y aplicación de expresiones en contenido de humedad.....	29
3.3.3	Propuestas de estrategias para la conservación <i>ex situ</i> de la rana <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).....	30
3.4	Materiales y equipos	30
		viii

3.5 Consideraciones bioéticas	31
CAPÍTULO IV	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1 Comparación del desarrollo de los renacuajos de <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>) sometidos a las dietas de <i>Spirulina</i> y <i>Taraxacum officinale</i>	32
4.2 Comparación de los valores nutricionales de las dietas con el desarrollo de los renacuajos de <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>)	35
4.3 Propuestas de estrategias para la conservación ex situ de la rana <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).....	39
4.3.1 Experimentación con dietas vegetarianas para determinar el alimento viable en el desarrollo de renacuajos de la rana <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).....	39
4.3.2 Manejo en laboratorio de la rana <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>) en etapa juvenil y adulta	43
CAPÍTULO V	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
5.1 Conclusiones	46
5.2 Recomendaciones.....	47
REFERENCIAS	48
ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).....	7
Tabla 2. Insumos necesarios para el ensayo.....	30
Tabla 3. Resultados promedio dietas	32
Tabla 4. Resultados del análisis de supervivencia de los individuos.....	37
Tabla 5. Resultados transformados del análisis bromatológico de las dietas	37
Tabla 6. Actividades para la experimentación con dietas vegetarianas en renacuajos.....	41
Tabla 7. Actividades para la supervivencia de la rana en etapa juvenil y adulta	44
Tabla 8. Datos de las repeticiones de la dieta a base de <i>Spirulina</i>	58
Tabla 9. Datos de las repeticiones de la dieta a base de <i>Spirulina</i> - <i>Taraxacum officinale</i>	58
Tabla 10. Datos de las repeticiones de la dieta a base de <i>Taraxacum officinale</i>	59
Tabla 11. Análisis de varianza en función de la variable longitud (mm)	59
Tabla 12. Análisis de varianza en función de la variable peso (g).....	60
Tabla 13. Análisis de varianza en función de la variable tiempo (días)	60
Tabla 14. Resultados transformación prueba bromatológica.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ubicación del hábitat natural de la especie <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).	18
Figura 2. Área de crecimiento conformado por los sistemas de aspersión y aireación.	21
Figura 3. Área de crecimiento conformado por los sistemas de aspersión y aireación.	21
Figura 4. Elaboración pasta de <i>T. officinale</i>	23
Figura 5. Proceso de alimentación de los individuos.	23
Figura 6. Obtención de datos de los parámetros físico químicos del agua.	25
Figura 7. Promedio de longitud y tiempo entre los diferentes tipos de dietas. ...	33
Figura 8. Promedio de peso y tiempo entre los diferentes tipos de dietas.	34
Figura 9. Diagrama de cajas de relación entre longitud cabeza-cloaca y dietas.	35
Figura 10. Diagrama de cajas en relación peso y dietas.	36
Figura 11. Mapa de ubicación del laboratorio para el ensayo de la especie <i>Atelopus</i> sp. (complejo <i>spumarius</i>).	56
Figura 12. Resultados prueba bromatológica.	57

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES
RENOVABLES

**EFFECTO DE DOS DIETAS EN RENACUAJOS DE *Atelopus* sp. (complejo
spumarius) EN LABORATORIO PARA GENERAR ESTRATEGIAS DE
CONSERVACIÓN *EX SITU***

Trabajo de titulación

Nombre del estudiante: Jéssica Johana Huera Cabascango

RESUMEN

La comunidad anfibia es de gran importancia en el ecosistema como indicador ambiental, sus características morfológicas la hacen vulnerable ante factores antrópicos y patógenos ocasionando la muerte y por ende el declive poblacional de los anfibios. Por lo tanto, para mitigar la extinción se efectúan programas de conservación *ex situ*. El presente estudio tuvo como objetivo obtener la mayor supervivencia de renacuajos en laboratorio de la especie *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) considerada endémica y emblemática del cantón Limón Indanza en la provincia de Morona Santiago en Ecuador debido a encontrarse en peligro de extinción. Para lo cual, se realizó el manejo de los individuos en etapa larval donde se evaluaron tres tipos de dietas D1: *Spirulina*, D2: *Spirulina-Taraxacum officinale* y D3: *Taraxacum officinale*; fueron alimentados un total de 225 individuos en tres repeticiones para cada dieta, al finalizar su etapa larval se midieron las variables longitud, peso y tiempo con relación a cada dieta. Los datos recolectados se analizaron con el método estadístico ANOVA y una prueba bromatológica para la comparación de los valores nutricionales. Como resultado se determinó que la dieta mixta a base de *Spirulina* y *Taraxacum officinale* es viable para el desarrollo de los renacuajos al presentar valores relevantes de 7,77mm; peso 0,0459g y tiempo de 106 días en la metamorfosis. Del análisis de resultados se establecieron estrategias de conservación: experimentar con diferentes dietas vegetarianas para la determinación del alimento idóneo en el desarrollo en etapa larval y el manejo postmetamorfosis hasta adultos.

Palabras clave: *Atelopus*, *Spirulina*, *Taraxacum officinale*, dietas, conservación.

ABSTRACT

The amphibious community is of great importance in the ecosystem as an environmental indicator, its morphological characteristics make it vulnerable to anthropogenic and pathogenic factors causing death and therefore the population decline of amphibians. Therefore, to mitigate extinction, ex situ conservation programs are carried out. The present study aimed to obtain the greatest survival of tadpoles in the laboratory of the species *Atelopus* sp. (spumarius complex) considered endemic and emblematic of the Limón Indanza canton in the province of Morona Santiago in Ecuador due to being in danger of extinction. For which, the management of the larval stage individuals where three types of diets D1: Spirulina, D2: Spirulina-Taraxacum officinale and D3: Taraxacum officinale; a total of 225 individuals were fed in three repetitions for each diet, at the end of their larval stage the variables length, weight and time were measured in relation to each diet. The collected data were analyzed with the ANOVA statistical method and a bromatological test for the comparison of nutritional values. As a result, it was determined that the mixed diet based on Spirulina and Taraxacum officinale is viable for the development of tadpoles by presenting relevant values of 7.77mm; Weight 0.0459g and time of 106 days in the metamorphosis. From the analysis of results, conservation strategies were established: experimenting with different vegetarian diets for the determination of the ideal food in larval stage development and postmetamorphic management to adults.

Key words: *Atelopus*, *Spirulina*, *Taraxacum officinale*, diets, conservation.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La alteración de los ecosistemas terrestres y acuáticos ha causado el declive de la comunidad anfibia a nivel mundial (Blaustein y Wake, 1990; Houlahan, Findlay, Schmidt, Meyer y Kuzmin, 2000; Stuart et al., 2004; UICN, 2019). Intervienen factores antrópicos generados por el ser humano, tales como: la expansión del sector productivo primario (agrícola y ganadero) ocasionando la reducción de los hábitats; quema masiva de combustibles fósiles, deforestación para el pastoreo de ganado y el cambio climático (Sierra, 1999; Bustamante, Ron y Coloma, 2005; Gascon et al., 2007; Hayes, Falso, Gallipeau y Stice, 2010). Como consecuencia la proliferación de enfermedades (quitridiomycosis) que alteran el sistema inmunológico de las especies produciendo su muerte (Longcore, Pessier y Nichols, 1998; Fisher, Garner y Walker, 2009; Antwis, Preziosi, Harrison y Garner, 2015; Adams et al., 2017).

Alrededor del 40% de anfibios están catalogados como amenazados y en peligro de extinción (UICN, 2019). En el Neotrópico, el mayor declive se presenta en el género *Atelopus* o Arlequín debido al área de distribución y características morfológicas propias de las especies (La Marca et al., 2005), son catalogadas como indicadores de calidad ambiental al ser susceptibles ante cambios nocivos en el entorno (Calles, 2007). Además, la importancia en la cadena trófica al mantener un equilibrio en el ecosistema evitando la sobrepoblación de algas que ocasionaría la contaminación del agua, aumento de plagas al nutrirse de las mismas y de igual forma son alimento de depredadores superiores (Campbell, Lawrence y Reece, 2000; Oram, 2000).

En el cantón Limón Indanza, provincia de Morona Santiago del Ecuador habita la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) considerada endémica al encontrarse naturalmente en el área (Merino, Peña, Salazar y Proaño, 2006). Salazar-Valenzuela (2007) y Peña-Loyola (2007) manifestaron que la especie estaba en peligro de extinción debido a la ampliación de la troncal amazónica y actividades

mineras cerca de su hábitat. Conocidas las amenazas fue necesario sustraer cierto número de individuos para realizar ensayos de reproducción en condiciones de laboratorio y posteriormente la reintroducción (L. Coloma, comunicación personal, 11 de septiembre de 2019). Evidenciada la importancia de la especie el Gobierno Municipal del cantón Limón Indanza dicta en Ordenanza Municipal con registro oficial, 417 el 31 de marzo de 2011 como símbolo emblemático para el cantón, al igual que leyes para la restauración del hábitat y la conservación *ex situ* de la especie.

En este contexto, se manifiesta la importancia de realizar la conservación de la especie en condiciones de laboratorio, donde se valoran parámetros representativos como: humedad, pH, temperatura y dieta (Primack, Rozzi, Feinsinger, Dirzo y Massardo, 2013; Amphibian Ark, 2019). Soamiarimampionona et al. (2015) recalca la dieta como una variable significativa en el desarrollo de renacuajos saludables para continuar con las etapas contiguas y cuando las condiciones de su entorno sean adecuadas sean reintroducidas. Por lo que, la presente investigación se enmarca en la determinación de un tipo de dieta viable para el mejor desarrollo y supervivencia de renacuajos de la especie en estudio.

Altig, Whiles, y Taylor (2007) mencionan que los renacuajos por su sistema digestivo son herbívoros y poco tolerantes a la proteína animal. El estudio enfatizó en dietas netamente vegetarianas tanto procesada a base de *Spirulina*, un alga que sirve como alimento por su alto contenido proteico (Belay, 2002; Ponce, 2013) y natural a base de *Taraxacum officinale* hierba medicinal, por sus propiedades curativas y alimento para los vertebrados (De la Torre et al., 2008). La mejor dieta se determinará con la valoración de variables de peso, tamaño y tiempo de metamorfosis.

El estudio se enmarca en el Objetivo 3 del Plan Nacional de Desarrollo (2017 - 2021) que menciona “*Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones*”, por lo que contribuye a la conservación y protección de

la biodiversidad. Fortaleciendo los instrumentos de aplicación para el manejo *in situ* y *ex situ* de las especies silvestres (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2017). Tomando en cuenta esto y los resultados del suministro de dietas se desarrollarán estrategias de conservación *ex situ* de la especie que contribuirán en futuros ensayos para reducir la tasa de mortalidad de renacuajos en laboratorio.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de dos dietas en el desarrollo de renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) en laboratorio para generar estrategias de conservación *ex situ* en el manejo de la especie.

1.1.2 Objetivos específicos

- Comparar el desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) sometidos a las dietas de *Spirulina* y *Taraxacum officinale*.
- Comparar los valores nutricionales de las dietas con el desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*).
- Proponer estrategias de conservación *ex situ* para la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*).

1.2 Pregunta directriz de la investigación o hipótesis

¿Cuáles son los efectos de dos dietas (*Spirulina* – *Taraxacum officinale*) en el desarrollo de los renacuajos de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)?

CAPÍTULO II

MARCO REFERENCIAL

2.2 Técnicas de conservación

Existen diferentes técnicas de conservación que se centran principalmente en la restauración de los ecosistemas por medio de programas de reforestación con especies nativas (Wells, y Brandon, 1993; Benito de Pando y Peñas de Giles, 2006; Dorado, y Arias, 2018). Estas técnicas pueden ser: creación de zonas de conservación o áreas protegidas, que a más de salvaguardar el material genético de los territorios brindan servicios ecosistémicos a las poblaciones ubicadas en sus alrededores, programas de educación ambiental que trabajan principalmente con las comunidades aledañas para dar a conocer la importancia de la conservación ambiental permitiendo el sostenimiento de los recursos naturales a través del tiempo e inversión en investigación para la conservación *ex situ* de las especies promoviendo su reproducción (Koleff, Urquiza-Haas, y Contreras, 2012; Balvanera, 2012; Aguiar, 2013;).

2.2.1 Conservación *ex situ*

La conservación *ex situ* es uno de los mecanismos más utilizados dentro de programa de conservación de especies, sobre todo para la conservación de especies con alto riesgo de supervivencia debido a la alteración de su entorno por acciones antrópicas; este mecanismo asegura el estudio y propagación de la diversidad biológica. (Navarrete, 2005).

La conservación *ex situ* puede desarrollarse de manera independiente tanto para la conservación de la biodiversidad de flora a través del establecimiento de jardines botánicos, orquidearios, bancos de semillas, plantaciones; así como para el manejo de fauna a través de zoológicos, criaderos, acuarios, incluso bancos de semen (Cáceres, 2014).

Para establecer una adecuada estrategia de conservación por manejo *ex situ* es necesario establecer los mecanismos adecuados de evaluación de las poblaciones manejadas, el análisis de la capacidad de manejo *ex situ* que posee la institución investigadora y sobre todo evaluar los aciertos y desaciertos del manejo *ex situ*. (Navarrete, 2005).

2.3 Conservación de los anfibios

La disminución de la población anfibia incide en la transformación del hábitat natural ocasionando que estos vertebrados por sus peculiares características biológicas se encuentren vulnerables a posibles patógenos (*Batrachochytrium dendrobatidis*), causantes de su repentina muerte, produciendo un desequilibrio en el ecosistema (Pessier et al., 1999; Merino-Viteri, 2001; Stuart et al., 2004; Hayes et al., 2010; Adams et al., 2017).

La conservación de los anfibios juega un papel importante no solo para el equilibrio de los ecosistemas, sino también en el campo agrícola por su capacidad de controlar plagas que afectan a los cultivos; así también en el campo farmacéutico y la biomedicina, debido a que su piel lisa genera componentes químicos capaces de combatir numerosas enfermedades y eliminar microorganismos patógenos (Aguar, 2013).

A nivel mundial, en los últimos 20 años cerca de 115 especies de anfibios han desaparecido, la contaminación de las fuentes de agua, el avance de la frontera agrícola, la introducción de especies, la alteración de los hábitats naturales ha provocado que hoy en día más del 42% de los anfibios se encuentren en peligro de extinción, por lo que es necesario establecer estrategias que permitan su conservación (Cáceres, 2014).

2.3.1 Manejo en laboratorio de los anfibios

Existen entidades que se encargan de la conservación *ex situ* de los anfibios en lugares como zoológicos, granjas, acuarios y laboratorios privados (Primack et al., 2013). La Organización Amphibian Ark en conjunto con otros entes, como: Amphibian Survival Alliance (ASA), la World Association of Zoos and Aquariums (WAZA), y la IUCN SSC Conservation Breeding Specialist Group (CBSG), se encargan de coordinar de las acciones de protección en todo el mundo, y posteriormente tienen como fin regresarlas a su hábitat natural, como lo hacen Moore y Mendelson III (2008) en su investigación la Conservación de Anfibios y las posibles estrategias a optarse para su liberación en el hábitat natural. Gillespie, Traher y Banks (2007) manifiestan que en Australasia se aplica el Plan de Acción para los Anfibios ARAZPA. En Ecuador se conoce la Balsa de los Sapos en la Politécnica Universidad Católica del Ecuador sede Quito, Centro de Conservación de Anfibios AMARU sede Cuenca y el Centro Jambatu de Investigación y Conservación de Anfibios en el Valle de los Chillos; encargados de preservar las diferentes especies en laboratorio.

Selección de la especie

La especie fue escogida debido a referencias manifestadas por el especialista del Centro Jambatu de Investigación y Conservación de Anfibios, y fue confirmada con información bibliográfica. A continuación, se detallan ciertas características propias de su familia, género y especie.

Pertenece a la familia Bufonidae distribuida en varios países. Este grupo taxonómico lo conforman aproximadamente de 580 especies, repartidas en 35 géneros, de los cuales *Atelopus* y *Rhinella* son los más representativos con alrededor de 70 especies cada uno (Ron et al., 2017). En el Ecuador, se encuentran 53 especies que se caracterizan por ser tóxicas y de colores llamativos. Su tamaño es reducido (las hembras son más grandes que los machos), tienen rostro aguzado y protuberante, extremidades cortas, dedos angostos que terminan en discos

expandidos y textura de su piel varia de lisa delgada hasta tuberculada angular (Rueda et al., 2005).

Rueda et al. (2005) manifiestan que las características de la especie, son las siguientes: rana colorida muy venenosa, el macho adulto mide hasta 45 mm y la hembra 57 mm aproximadamente, dorso amarillo manchado de negro, flancos negros enteros y vientre rojizo anaranjado con manchas redondeadas de color negro. La taxonomía de la especie se muestra detallada en la Tabla 1:

Tabla 1. Taxonomía *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Amphibia
Orden	Anura
Familia	Bufonidae
Género	<i>Atelopus</i>
Especie	sp. (complejo <i>spumarius</i>)

Fuente: Lötters et al. (2011).

Ciclo evolutivo

Las ranas manifiestan ciertas etapas de desarrollo hasta ser adulta, en este segmento se detallarán datos sobre la biología de la reproducción, el comportamiento y la biología del desarrollo para una mejor comprensión y comparación. (Aguilar, 2013).

- Reproducción y eclosión de huevos
- Renacuajos
- Metamorfosis

Los anuros del género *Atelopus* presentan una reproducción que comienza con el cortejo de la hembra por medio de un canto estridente (Blandón-Marín, 2007), se efectúa el amplexus (abrazo nupcial) para aparearse, los huevos fecundan al momento que salen de la cloaca, debido a que el macho se encuentra sobre la hembra y el semen se esparce sobre los mismos (Sanabria, Quiroga y Acosta, 2007). El acto de apareamiento dura alrededor de 125 días. Posteriormente, se

presenta la postura de 200 – 300 huevos. Y se tardan un tiempo aproximado de 15 días a nivel para transformarse en renacuajos (Armijos, 2014).

Se evalúa el desarrollo de los renacuajos, los cuales manifiestan un valor aparente de 125 días para la transformación en rana, aunque dicho lapso de tiempo está ligado a las variables ambientales como la temperatura y los parámetros de calidad de agua, como se presenta en el estudio sobre “Diseño de una estrategia técnica para la reintroducción de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) a su hábitat natural en cuatro cantones de Morona Santiago” (Armijos, 2014; Soamiarimampionona et al., 2015).

Los renacuajos presentan un tamaño pequeño, cuerpo aplanado, una cola y un color negruzco con manchas blanquecinas. Además, constan de un disco suctorial en la parte posterior de la boca permitiéndoles adherirse a las rocas en las cuales se alimentan de algas o material vegetal, sus branquias les permiten recoger el oxígeno disuelto en el agua para liberarlo como dióxido de carbono (Oram, 2000).

En la etapa larvaria existe un cambio en la anatomía y hábitos para llegar a la adultez, además se considera como una evolución equilibrada en la continuidad de la vida (Tushman y Romanelli, 1985). El proceso de metamorfosis consta desde la postura, eclosión, renacuajo y rana. Cabe mencionar que los renacuajos son sensibles ante el cambio brusco del hábitat acuático a terrestre (Aguar, 2013).

Indicadores de desarrollo en renacuajos

Según Carmona-Osalde et al. (1996), Pelegrín et al. (2004), Matson et al. (2010), Aguilar (2013), Soamiarimampionona et al. (2015), en las investigaciones realizadas se manifiesta la importancia de varios factores como ambientales y dietéticos que se involucran en el desarrollo de los renacuajos en laboratorio. Estas condiciones son controladas con equipos sofisticados para lograr una mayor supervivencia y salud de los individuos.

Factores ambientales y parámetros de calidad del agua

Según Odum y Zippel (2008) y Soamirampionona et al. (2015), consideran los siguientes aspectos en el desarrollo de los renacuajos:

- **pH:** La supervivencia de los individuos debería mantenerse en condiciones óptimas en un rango de 6.5 a 8, así evitando problemas de salud de los especímenes (Servín, 2011). Caso contrario al existir una variación, se produciría la desnaturalización de las proteínas y su muerte de los individuos (Aznar, 2000).
- **Temperatura del agua:** El valor del agua debe mantenerse en una diferencia mínima a la temperatura ambiente, ya que al encontrarse con una baja temperatura perjudicará el crecimiento de los individuos (Bradfield, 2010; Aguiar, 2013).
- **Oxígeno disuelto:** Presente en el agua y su cantidad dependerá de la temperatura del agua y la presión atmosférica sin sobrepasar el 80% (Servín, 2011), debe existir un equilibrio entre estos factores, ya que al producirse una sobresaturación del mismo conllevaría al perjuicio en el desarrollo de los individuos, provocando una condición denominada “enfermedad de burbujas de gas”, que ocasiona eritema, hemorragia y muerte (Aguiar, 2013).
- **Temperatura ambiente:** Considerado el factor significativo en producir alteraciones en la fisiología de las especies poiquiloterms. Los anfibios al ser ectotermos no proporcionan la cantidad necesaria de energía para sus procesos biológicos, y que utilizan la ambiente para sus debidos comportamientos en la exposición solar o hibernación. Además, es importante en el desarrollo de los renacuajos al reducir el tiempo que necesitan para llegar hasta la metamorfosis, y actuando contrariamente se retrasaría su crecimiento (Aguiar, 2013).

Dieta en renacuajos

La dieta en el desarrollo de los renacuajos tiene gran importancia para su supervivencia. Aunque no existe una alimentación específica, por lo que se tiene que recurrir a una nutrición con productos comerciales que estandarizan el valor nutricional de los alimentos (Pelegrín et al., 2004). Al realizarse una inadecuada nutrición de los renacuajos pueden causar problemas metabólicos y de desarrollo, por ejemplo, el síndrome de las piernas espigadas, produciendo la deformación permanente (Schad, 2008).

Para proporcionar el alimento se deben tomar consideraciones en su valor nutricional, ya que el tejido vegetal es más alto en carbohidratos y menos en lípidos y proteínas que el tejido animal, cierto porcentaje de esta composición en la dieta puede influir en la función de la hormona tiroidea que afecta al crecimiento y diferenciación en su metamorfosis (Álvarez y Nicieza, 2002; Pelegrín et al., 2004; Soamirampionona et al., 2015).

En distintos estudios se ha promovido la importancia de los indicadores antes mencionados. Soamirampionona et al. (2015) realizaron un estudio sobre los efectos de tres dietas en el desarrollo larvario de *Mantidactylus betsileanus*, donde se obtuvo como resultado que, los renacuajos alimentados con hojas de mostaza no presentaron un desarrollo significativo, a comparación de los alimentados con algas de espirulina y dieta de camarón, su peso y tamaño fueron significativos. Carmona et al. (1996) realizaron un estudio enfocado en el porcentaje de proteína adecuado para el desarrollo de los renacuajos de la *Rana catesbeiana*, teniendo como resultado que aproximadamente el 45% de proteína es idóneo para su evolución. Según Coloma (2016), los estudios en dietas para el género *Atelopus* es mínimo, en el Centro de Investigación y Conservación de Anfibios se efectúan varios ensayos con distintos insumos alimenticios.

- *Spirulina*

Desde hace 500 años esta alga se utiliza como alimento por los aztecas en México y los kanenmbu en África, los habitantes procedían a recoger el material vegetal y someterlo a un secado bajo los rayos solares. Por lo que, las personas que consumían este producto se mantenían con buena salud y condición física. Debido a los valores que aporta en la nutrición. En el año 1962 los técnicos franceses y belgas iniciaron con el cultivo de dicha alga y posteriormente a otros países como México donde realizaron un aprovechamiento industrial produciendo diferentes productos a nivel de medicamentos, cosméticos, productos textiles, entre otros (Cifuentes, Torres-García y Frías, 1997).

Según Ponce (2013), la *Spirulina* tiene varios beneficios como: antioxidante, antiviral, protector contra el cáncer, antitóxico al retener metales pesados y un regulador de hiperglicemia e hiperlipidemia, debido a su fuente proteica, además de minerales y vitaminas.

Schad (2008) manifiesta que la *Spirulina* es un complemento dietético, obtenido a partir de dos cianobacterias, tiene proteínas más digeribles que la carne de vaca, de ahí que es muy recomendada para combatir la malnutrición, este suplemento se hizo muy popular, al ser utilizado por la NASA en la dieta de astronautas. En los últimos años, muchos zoológicos a nivel mundial, han utilizado *Spirulina* en la alimentación de anfibios en peligro de extinción, con la finalidad de aumentar sus poblaciones, para ello alimentaron ranas con moscas de frutas que a su vez fueron alimentadas con *Spirulina* y pigmentos carotenoides, de esta manera lograron incrementar sus poblaciones, al disminuir la deficiencia alimentaria y aumentar su reproducción, ya que los nuevos renacuajos, alcanzaron fácilmente la fase de metamorfosis.

- ***Taraxacum officinale***

Originaria de Grecia, se distribuye por todo el mundo. En el Ecuador es considerada como una planta invasora se la encuentra en las ciudades y campos; esto por su capacidad de adaptación (Arango, 2006). Además, es utilizada como medicina tradicional, se usan las hojas, raíces, flores y frutos; la forma recomendada para su ingesta es como: decocción, infusión, jugos y extractos (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Arango (2006) menciona que el extracto de *Taraxacum officinale* facilita la liberación de jugos digestivos, la correcta eliminación de líquidos que mejoran el metabolismo de los anfibios en laboratorio, permite aprovechar los nutrientes de los alimentos ingeridos, disminuyendo el desgaste energético y facilitando en algunas especies como las ranas el proceso de metamorfosis.

Para la obtención de extractos de *Taraxacum officinale* es necesario seleccionar adecuadamente las hojas y el tallo; el polvo del tallo, debe ser filtrado previamente, en filtro de 0.45 µm, una vez que se filtre el polvo del tallo, se debe disolver en agua estéril a una concentración de 40 mg/mL y conservarlos en la oscuridad (Anderson, 2009).

Nutrientes

Según Aguiar (2013) en su estudio sobre la “Influencia de la dieta y la temperatura en el crecimiento de renacuajos durante los estadios 21, 22, 23, 26, 32, 38 y en estadio juvenil de la rana *Ceratophrys stolzmanni* en laboratorio”, manifiesta que el nivel de nutrientes en el alimento que se suministra a los anfibios en laboratorio, se relaciona directamente en el desarrollo de los mismos, ya que al proporcionar cantidades demasiado bajas o altas influenciaran en la salud de la especie. Varela (2003) y Bautista (2007) recalcan la importancia de los contenidos nutricionales de las dietas a suministrarse en los especímenes, tales como:

Proteínas: La concentración de proteínas constituye el mayor porcentaje en las células del cuerpo animal, sus actividades involucran como: anticuerpos, coagulación sanguínea y coopera en el sistema de transporte activo. Estos se producen en porcentajes proporcionados por los mismos, aunque no se considera suficiente para las síntesis en su organismo, por lo que son suministrados.

Carbohidratos: Compuesto de azúcar y almidón, proporciona energía, aunque ocasiona una afección en el tracto gastrointestinal, ya que varias especies no toleran su alto contenido en la dieta.

Minerales: Existen varios grupos de minerales que cumplen funciones específicas en el organismo. En los animales no presenta un porcentaje considerable, y sus niveles se requieren en función a su sexo, edad, especie, condición reproductiva y productora.

2.3.2 Bioensayo

Aguiar (2013) menciona que el bioensayo (experimento científico), que indaga los efectos que tienen el suministro de una sustancia, en un organismo vivo este tipo de experimentos en anfibios es utilizado comúnmente para incrementar el número de individuos de una determinada especie, facilitando la conservación *ex situ* de las especies.

2.3.3. Fórmula alimenticia enriquecida para criar renacuajos en laboratorio

Arango (2006) después de varios ensayos, con diferentes procedimientos alimenticios para criar renacuajos en cautiverio, menciona que la mezcla de fito nutrientes, minerales y vitaminas crea una fórmula idónea, que imita las condiciones naturales, de alimentación de los renacuajos, por lo que su supervivencia aumenta, facilitando la experimentación y comparación entre individuos.

2.4 Marco legal

La investigación realizada se enmarca en la conservación de la biodiversidad. Por lo que, para su ejecución se cumplió con la normativa vigente, en sus artículos mencionan la importancia de salvaguardar la integridad de la naturaleza.

2.4.1 Constitución de la República del Ecuador

Toda entidad pública o privada y personas naturales o jurídicas, para la realización de investigaciones con fines ambientales, se deben regir a las bases legales suscritas en la Constitución de la República del Ecuador (2008). La misma que presenta artículos que reconocen los derechos ambientales, que procuran la existencia de un ambiente sano y equilibrado, entre el hombre y la naturaleza. Por lo que, se recalcan los siguientes artículos relacionados con la conservación de la fauna silvestre:

Art. 14.- La población tiene el derecho a vivir en un ambiente sano y equilibrado, garantizando la sostenibilidad y el buen vivir. Por ende, se manifiesta de interés público la conservación, prevención, preservación y recuperación de la biota.

Art. 73.- El Estado dictara medidas de precaución y sanción para aquellas actividades que ocasionen la pérdida de ecosistemas, alteración de ciclos naturales, que provocaría la extinción de la especie. La introducción de organismos exóticos y material orgánico e inorgánico, está prohibido debido a que pueden alterar de manera permanente el patrimonio genético nacional.

Art. 397.- El Estado tiene la índole de subsidiar de manera inmediata ante un riesgo ambiental, y con ello, restaurar los ecosistemas y garantizar la salud de la población. Por ende, emitirá las respectivas sanciones al operador de la actividad, que se enmarcan en la reparación integral del área afectada.

Art. 414.- El Estado ejecutara las medidas pertinentes que promuevan la mitigación del cambio climático, entre estas, reducción de emisiones de gases, la deforestación y la contaminación. Además, de medidas para la preservación de los ecosistemas.

2.4.2 Convenio sobre la Diversidad Biológica

La investigación realizada se enlaza con tratados internacionales en pro de la biodiversidad. Por lo que, se hace referencia el Convenio sobre la Diversidad Biológica (1992), que tiene por objetivos la conservación, uso sostenible de los recursos genéticos y reducción del impacto en el entorno. Con esto, se promueve el desarrollo de prácticas adecuadas para evitar el desequilibrio en la naturaleza.

Art. 9.- Se promoverán medidas para la conservación *ex situ*, de preferencia en el país de origen, manteniendo las instalaciones para las debidas investigaciones, recuperación y rehabilitación de las especies amenazadas. Además, tiene la índole de cooperar financieramente para la conservación *ex situ*.

Art. 10.- Se encargará de adoptar medidas para la utilización sostenible de los componentes de la diversidad biológica. Alentará en la utilización de prácticas tradiciones en pro de la conservación y fomentará la participación entre entidades gubernamentales y privadas, para la elaboración de métodos para el desarrollo sostenible de los recursos.

2.4.3 Código Orgánico del Ambiente

Con el fin de garantizar los derechos de la naturaleza, el presente Código Orgánico del Ambiente (2017), dispone de manera obligatoria el cumplimiento de las leyes suscritas en dicho código. Así, se pretende asegurar la conservación, preservación, sostenibilidad y restauración del ambiente. La investigación ejecutada se enmarcó en los siguientes artículos:

Art. 64.- La conservación *ex situ* promoverá el aprovechamiento sostenible, la preservación, protección y estabilidad de las especies silvestres. Con ello, se fomentará la investigación para el desarrollo científico y biotecnológico, y la educación ambiental para el cuidado de las especies. La Autoridad Ambiental Nacional se encargará de evaluar el progreso de las actividades de forma periódica.

Art. 65.- Las especies objeto de conservación *ex situ*, son las catalogadas como en peligro de extinción por la reducción de su población, a causa de la destrucción de su hábitat u otros factores antrópicos. Además, de las especies que presenten importancia de índole científica, alimenticia, medicinal, económica y la que la AAN determine prudente para su conservación.

Art. 66.- Para la conservación y manejo de las especies existen diferentes medios, tales como: acuarios, zoológicos, centros de cría y reproducción sostenible, viveros y otros determinados por la AAN.

2.4.4 La Ordenanza Municipal para declarar a *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) como especie emblemática del cantón Limón Indanza y proteger sus poblaciones remanentes y hábitat (2011)

El estudio realizado se enmarcó en las políticas dispuestas en la ordenanza mencionada, la misma que tiene como finalidad la protección y conservación de la especie. Donde se estipula:

Art. 1.- Conservación de la población de la especie amenazada, que se encuentra distribuida en la jurisdicción territorial del cantón Limón Indanza.

Art. 2.- Se procurará la protección de la especie, conservación de la diversidad biológica y regulación de la explotación minera en la quebrada del río Napinaza.

Art. 3.- Las políticas municipales suscritas, tienen como fin la protección de la especie en conjunto con la población para generar mayor conciencia en su conservación.

Art. 4 y 5.- Se declara a la especie como emblemática y su imagen oficialmente se incorpora en la lista de símbolos cívicos de la Municipalidad de Limón Indanza.

Art. 6.- La colecta de individuos de la especie *Atelopus* sp., deberá contar con los permisos legales según normativa vigente.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Se presenta la metodología utilizada para el desarrollo de los objetivos de investigación.

3.1 Hábitat natural de la especie *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

Se encuentra distribuida en la quebrada del río Napinaza, entre las parroquias Yunganza y General Leonidas Plaza Gutiérrez, cantón Limón Indanza, provincia de Morona Santiago (Figura 1). Su ubicación $2,93664^{\circ}$ sur y $78,41605^{\circ}$ oeste, y altitud aproximadamente de 850-1520 m.s.n.m. Su ecosistema se referencia a un Bosque Siempreverde Piemontano de las estribaciones de la Cordillera Oriental de los Andes (Palacios et al., 1999; Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2012). La precipitación promedio anual está entre 1500-2500 mm y la temperatura promedio anual varía entre 16-22 °C (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2018).

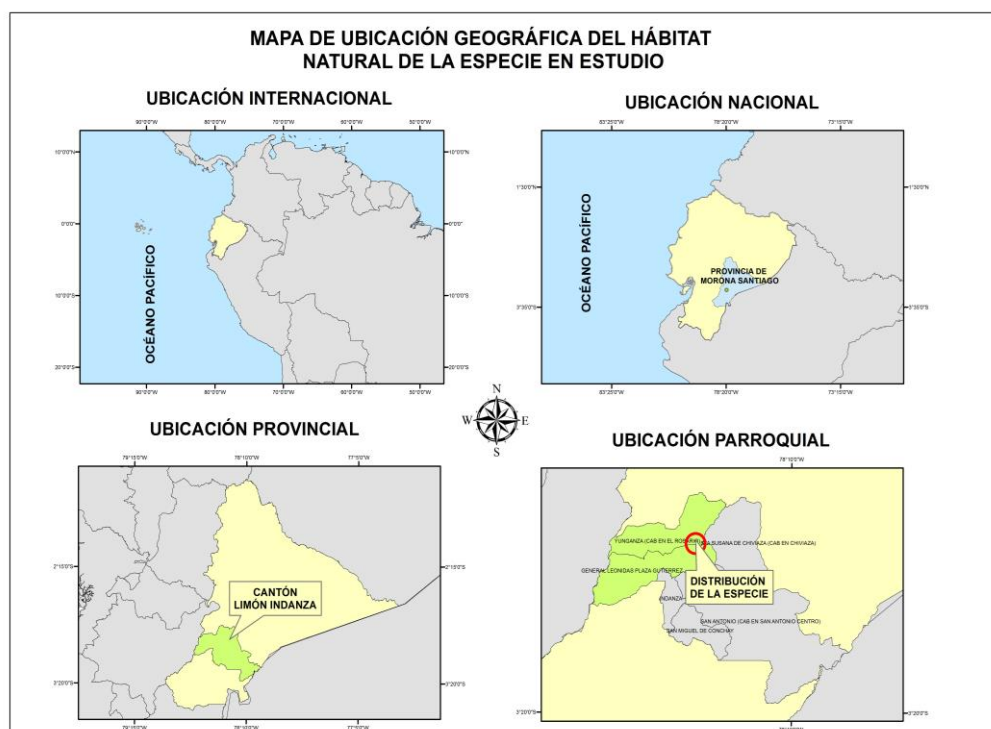


Figura 1. Mapa de ubicación del hábitat natural de la especie *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*).

General Leonidas Plaza Gutiérrez es cabecera cantonal del cantón Limón Indanza. Limita al norte con la parroquia Yunganza, al sur con el cantón San Juan Bosco, la parroquia Indanza y la parroquia San Antonio; al este con la parroquia Sta. Susana de Chiviaza, y al oeste con la provincia de Azuay. Tiene una superficie de 286,7 km². Se encuentra a una altitud de 850-3700 m.s.n.m.; consta de una población total de 3981 habitantes (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2010; Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal Limón Indanza, 2015).

Yunganza está situada en la parte central del cantón Limón Indanza. Limita al norte con el cantón Santiago, al sur con la parroquia General Leonidas Plaza Gutiérrez; al este con la parroquia Sta. Susana de Chiviaza y al oeste con el cantón El Pan. Tiene una superficie de 256,5 km². Se encuentra a una altitud de 600-3600 m.s.n.m.; consta de una población de 1240 habitantes (INEC, 2010; Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural Yunganza, 2015).

3.2 Área de experimentación para la conservación *ex situ* de la especie

La investigación se efectuó en el laboratorio experimental del Centro Jambatu de Investigación y Conservación de Anfibios, situado en la región Norte del Ecuador en la Provincia de Pichincha, Cantón Rumiñahui, Parroquia San Rafael (Figura 11 en anexos). El laboratorio consta de infraestructuras adecuadas para las diferentes etapas desde el apareamiento hasta adulto, cada una de sus áreas cuenta con equipos necesarios en el cuidado de los anfibios. Existe un sistema abierto y automatizado de agua, es decir, suministra la entrada y salida de agua a los terrarios, es previamente tratada desde su ingreso por una cisterna especial que reduce el índice de químicos y un sistema de filtros que eliminan la mayor cantidad de cloro en el agua; el sistema de aire está compuesto por un compresor que libera aire a presión y se distribuye por las mangueras hasta los contenedores, esto se realiza para mantener el nivel de oxígeno disuelto que necesitan para su desarrollo.

3.3 Métodos

El ensayo se realizó en tres etapas que fueron necesarias para alcanzar los objetivos propuestos en la investigación.

3.3.1 Comparación del desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) sometidos a las dietas de *Spirulina* y *Taraxacum officinale*

A continuación, se detallan cada uno de los métodos, insumos y materiales que fueron utilizados en el desarrollo de la investigación, así cumpliendo con el primer objetivo propuesto:

Adecuar el área de crecimiento de los individuos en estadio larval

Se adquirieron nueve recipientes plásticos PP5 número 8 de diez litros que, debido a su característico olor y presencia de partículas de polipropileno, fue necesario aplicar un tratamiento que eliminó las impurezas contenidas en los mismos, los recipientes fueron llenados con agua y puestos a reposar por 3 días al sol. Al terminar el tratamiento se elaboró orificios que fueron sellados con silicona y una tela fina porosa, esto fue necesario para mantener la filtración continua del agua que evitó el desfogue al activarse el sistema de aspersión. El proceso se efectuó con la finalidad de reducir el mantenimiento total del contenedor ya que la continua manipulación de los individuos puede provocar estrés ocasionando la muerte (Notas de laboratorio de Centro Jambatu y Wikiri de Patricio Vargas, 2017). Posteriormente, se realizó la instalación de los sistemas de aspersión y aireación (Figura 2), procediendo con lo siguiente:

- 1) El sistema de aspersión constó de la instalación de nueve aspersores en el conducto principal del agua, estos se distribuyeron en cada uno de los contenedores. Para su funcionamiento se procedió a regular el equipo de control de riego GASCOM que se activó tres veces al día con una duración de

diez minutos. Este proceso se efectuó para mantener la calidad del agua para los individuos.

2) El sistema de aireación constó de la instalación del equipo de aire marca JAD, se conectaron dos mangueras principales con reguladores de aire en sus extremos con varios orificios donde se colocaron nueve mangueras de 50 cm de largo, en uno de sus extremos se sujetó una roca que mantuvo la manguera dentro del contenedor.

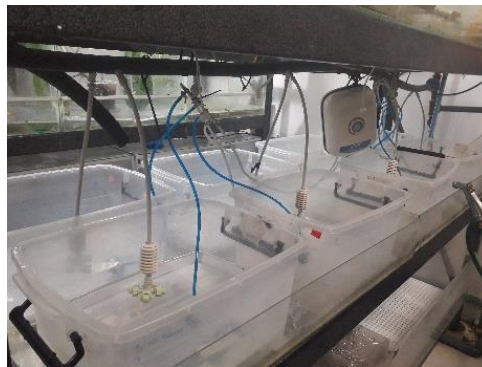


Figura 2. Área de crecimiento conformado por los sistemas de aspersión y aireación.

Seleccionar los individuos para el ensayo

Con las instalaciones adecuadas, se procedió a la verificación del estadio idóneo en el cual los renacuajos poseen la capacidad de alimentarse (Gosner, 1960). Presentando el estadio se procedió a llenar los contenedores con 3 litros de agua del terrario donde eclosionaron los renacuajos. Se recolectó 225 renacuajos que fueron distribuidos 25 individuos por 3 repeticiones (Figura 3) (Martins, do Mar Oom, Rebelo y Rosa, 2013).

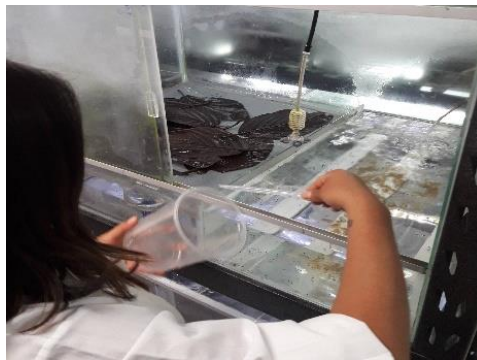


Figura 3. Área de crecimiento conformado por los sistemas de aspersión y aireación.

Determinar la cantidad de alimento

La cantidad de alimento proporcionado fue de acuerdo al peso del renacuajo, fue determinado con el promedio del peso de n individuos, resultando 0,0025g. Relacionando la cantidad de alimento igual a 4 veces el peso del individuo. En el transcurso del crecimiento de los individuos fueron alimentados 3 veces por semana una vez al día hasta terminar el ensayo. Con la descripción citada se obtuvieron las cantidades de cada una de las dietas:

D1: *Spirulina* al 100%. Se usó un peso de 0,25 g.

D2: *Spirulina* 50% y *T. officinale* 50%. Se usó un peso de 0,125 g y 1,125 ml de pasta de *T. officinale*.

D3: *T. officinale* 100%. Se usó un volumen de 2,5 ml de pasta de *T. officinale*.

Elaborar pasta de alimento

Para la obtención de cada una de las pastas se realizó lo siguiente:

1) ***T. officinale*:** se clasificó las hojas con mejor estado de salud para el uso respectivo en el ensayo. Posteriormente, fueron lavadas para eliminar impurezas; con un vaso de precipitación se midió un volumen de 2000ml de agua que se vertió en una olla de acero y fue colocada al fuego, cuando el agua alcanzó su punto de ebullición se añadieron las hojas para su cocción con un tiempo de 12 minutos para no perder sus componentes nutricionales, al terminar la cocción fueron retiradas del fuego y puestas a enfriar a temperatura ambiente. Luego se pesaron las hojas cocidas en la balanza analítica de precisión donde se expresó el peso exacto para su uso, siendo de 50g; se midió un volumen de 100ml de agua, que fueron colocados en una licuadora para su trituración hasta que se consiguió una solución homogénea.

La figura 4 muestra la pasta obtenida después del proceso descrito anteriormente para el *T. officinale*.



Figura 4. Elaboración pasta de *T. officinale*.

2) ***Spirulina***: se consiguió con el pesaje del polvo procesado de *Spirulina* en la balanza analítica de precisión, en un mortero se mezcló el polvo con 2ml de agua. El mismo proceso se cumplió para la mezcla de ***Spirulina* y *T. officinale*** que por ende es la mitad de cada una de las dietas.

Alimentar al renacuajo con pasta

La forma para su alimentación constó de untar la solución homogénea en rocas, se dejó secar al sol hasta que se evaporó el agua de la mezcla y finalmente se sumergieron las rocas en cada uno de los contenedores, todo proceso fue con la debida asepsia evitando la proliferación del hongo quitridio (Figura 5) (Martins et al., 2013).



Figura 5. Proceso de alimentación de los individuos.

Mantenimiento de los contenedores

Según las Notas del Laboratorio del Centro Jambatu y Wikiri de Patricio Vargas (2017) se tuvo que realizar el mantenimiento de los contenedores una vez al día cuando se alimenta, y al cabo de tres semanas se debió retirar el contenedor y los materiales de alimentación para mantenimiento total, así se evitó la propagación de hongos causantes de la muerte de los individuos.

Obtención de datos de los parámetros fisicoquímicos del agua

Soamiarimampionona et al. (2015), involucra los parámetros del agua y condiciones ambientales en el desarrollo de los renacuajos. Por lo que, en el estudio se realizó el registro de diferentes parámetros (Figura 6), tales como:

- pH estuvo en el rango de 6,5 a 8,5 considerado óptimo para la supervivencia de los anfibios en estanques (Servín, 2011).
- Oxígeno disuelto (OD) mantuvo valores entre 80% a 87%. Según, Servín (2011) el rango es del 80%. El porcentaje dependió de la temperatura del agua y la presión atmosférica.
- Temperatura del agua (T°C) estuvo entre 18°C a 20,8°C. El valor del agua debió mantenerse en una diferencia mínima a la temperatura ambiente (Bradfield, 2010; Aguiar, 2013).
- Temperatura laboratorio (T°C) sus valores fueron entre 19°C a 24°C. Considerado factor significativo para el ciclo de los anfibios (Aguiar, 2013). Se controló con el calefactor de cerámica de torre NAKOMSA.



Figura 6. Obtención de datos de los parámetros físico químicos del agua.

Medición y pesaje de los individuos

Según investigaciones de Aguiar (2013), Arbeláez y Vega (2014) y Soamiarimampionona et al. (2015) se consideraron las siguientes variables:

- **Peso (g):** es el valor de la biomasa del individuo, se determinó con la balanza de precisión.
- **Tamaño (mm):** es la longitud de los individuos, para su medición se utilizó el calibrador.
- **Tiempo (días):** es el transcurso que tardó en la transformación de renacuajo a rana.

Los valores fueron registrados cuando los individuos finalizaron su etapa larvaria, ya que son delicados y al estar continuamente manipulados el riesgo de mortalidad es mayor.

Análisis cuantitativo de los datos recopilados

Se aplicó el diseño experimental completamente al azar apropiado para experimentos en laboratorio donde se empleó unidades experimentales homogéneas que permitieron disminuir el error experimental en el ensayo (Aguirre y Vizcaíno, 2009). Para el estudio se aplicó 3 dietas con 3 repeticiones

cada una reduciendo el error en los resultados. Con datos de laboratorio, se procedió al análisis de variables:

- **Variables analizadas**

Dependientes: Peso, longitud y tiempo de metamorfosis

Independientes: Dietas

Se aplicó el análisis estadístico ANOVA, prueba de Duncan para determinar la significancia entre dietas y diagrama de cajas, estos métodos estadísticos establecieron los valores medios entre las variables dependientes e independiente. Se realizó una comparativa entre cada una de los resultados. Las pruebas se obtuvieron con el Programa estadístico InfoStat versión 2016.

3.3.2 Comparación de los valores nutricionales de las dietas con el desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

La comparación de los valores nutricionales de las dietas consideró la relación entre los contenidos nutricionales y la cantidad de alimento suministrado en la etapa de renacuajos (Aguilar, 2013) (Figura 12 en Anexos). Para la determinación de los componentes nutricionales se realizó una prueba bromatológica en el laboratorio de la Universidad Técnica del Norte, se aplicaron los siguientes métodos de análisis (AOAC, 2005):

Humedad (AOAC 925.10)

El procedimiento para la obtención de la humedad consistió en un duplicado de la muestra con 2g aproximadamente, si es necesario se homogeniza la muestra, se selló y pesó correctamente, realizado el pesaje se procedió a secar en la estufa a 130°C por una hora. Finalizado el tiempo de espera la muestra se transfirió a un desecador, donde es destapada y al llegar a temperatura ambiente nuevamente se selló para su pesaje.

La expresión porcentual se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \text{Mb} - \text{Ma} * 100 / \text{M}$$

Donde:

Mb = masa de la cápsula y la muestra seca en gramos.

Ma = masa de la cápsula en gramos.

M = masa de la cápsula más la muestra antes del secado en gramos.

Cenizas (AOAC 923.03)

Un residuo orgánico que resulta al final del proceso de quemar materia orgánica. El porcentaje de cenizas demostró el contenido de minerales que consta el alimento. El procedimiento fue por el método gravimétrico, constó del pesaje de aproximadamente 5g de la muestra en una cápsula, debió estar previamente carbonizada por una hora en mufla a 550 °C, se dejó enfriar en el mismo lugar para su posterior pesaje.

La fórmula para el cálculo en porcentaje fue:

$$\% \text{ Cenizas} = \text{C3} - \text{C1} / \text{C2} - \text{C1} * 100$$

Donde:

C1 = masa de la cápsula en gramos.

C2 = masa de la cápsula con la muestra en gramos.

C3 = masa de la cápsula con las cenizas en gramos.

Proteína Total (AOAC 920.87)

Las proteínas que se encuentran en los alimentos son una compleja combinación de aminoácidos. Para la obtención del valor se realizó el método de Kjeldahl, el cual mide la cantidad de nitrógeno en una muestra. El proceso constó de tres etapas:

1.- Etapa de digestión: el nitrógeno fue descomposición, se utilizó una solución de ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador y en ebullición se convirtió en ion amonio o sulfato de amonio.

2.- Etapa de destilación: la muestra resultante de la primera etapa fue alcalinizada desprendiendo el nitrógeno en forma de amoníaco, se recogió en una cantidad conocida de solución de ácido bórico.

3.- Etapa de valoración: por medio de una volumetría ácido-base se realizó la cuantificación del nitrógeno amoniacal, además se empleó ácido clorhídrico o sulfúrico y una disolución alcohólica que fue el indicador, fue una mezcla a base de rojo de metilo y azul de metileno. Por lo tanto, los equivalentes de ácido consumidos correspondieron a los equivalentes de amoníaco destilados.

La fórmula para el porcentaje de proteínas fue:

$$\% \text{ Proteínas} = P2 / P0 * 100 * F$$

Donde:

P2 = Nitrógeno

P0 = Peso de la muestra

F = Factor proteínico

Grasa (AOAC 920.85)

Para obtener el valor graso de las muestras se utilizó el método de extracción Soxhlet, el cual permitió la separación sólido-líquido. Este proceso de extracción se realizó con la aplicación de éter por varias horas, luego se evaporó dejando un residuo aceitoso que posteriormente fue pesado.

La fórmula que determinó el porcentaje de extracto etéreo es:

$$\% \text{ Grasa} = m_2 - m_1 * 100 / M$$

Donde:

m₁ = masa del matraz de fondo redondo vacío en gramos.

m₂ = masa del matraz de fondo redondo con grasa en gramos.

M = peso de la muestra en gramos.

Fibra Total (AOAC 978.10)

Considerado importante, ya que tiene como función primordial hincharse cuando se absorbe agua y de esta manera aumenta el volumen en materia fecal, facilitando la evacuación intestinal. Para la obtención de sus valores se realizó el método Fibertest, que constó del siguiente procedimiento:

Se realizó el pesaje de aproximadamente 0,5g de muestra, se colocó las muestras dentro del Fibertest y se añadió agua caliente. Se agregó el ácido sulfúrico y en el punto de ebullición se debió esperar 30 min, se eliminó el ácido con la bomba lavando con agua destilada caliente, se agregó Hidróxido de sodio por 30 min, se eliminó y retiró del equipo, se colocó en la estufa por aproximadamente 12 horas. Luego, se retiró para su enfriamiento a temperatura ambiente y nuevamente pesar.

La fórmula que determinó el porcentaje de fibra es la siguiente:

$$\% \text{ Fibra} = \text{PS} - \text{PC} * 100 / \text{PM}$$

Donde:

PS = Peso seco

PC = Peso incinerado

PM = Peso de la muestra

Análisis y aplicación de expresiones en contenido de humedad

Los resultados obtenidos del análisis bromatológico de las dietas demostraron que, ciertos parámetros de la muestra fueron expresados en base seca de materia. Por lo que, fue necesario la aplicación de expresiones que transformaron los

parámetros de base seca en base húmeda, además se tuvo que recalcular el porcentaje de carbohidratos totales. Con los resultados finales se realizó una sumatoria total de los parámetros obteniendo el 100% en cada una de las dietas (Tabla 5).

3.3.3 Propuestas de estrategias para la conservación *ex situ* de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

Como resultado del análisis de los objetivos anteriores, se determinó el factor dieta es de vital importancia para el desarrollo de los renacuajos ya que al tener un peso y tamaño adecuado tienen mayor probabilidad de supervivencia. Finalmente, evidenciado los problemas en el ensayo se proponen estrategias de conservación *ex situ* que promoverán la supervivencia de la rana y pueda ser reintroducida a su hábitat natural cuando las condiciones ambientales sean apropiadas.

3.4 Materiales y equipos

Tabla 2. Insumos necesarios para el ensayo

Instrumentos	Equipo	Materias Primas
Mandil	2 balanzas de precisión de 0.0001 gr. y 0.1 gr	225 renacuajos
Estructuras metálicas	Termo-higrómetro	<i>Spirulina</i>
Tinas plásticas 10	Calentador de cerámica de torre NAKOMSA	Hojas <i>Taraxacum officinale</i>
Sistema de riego	Computadora	
Guantes		
Mortero	Equipo de control de riego	
Envases plásticos	GASCOM	
Tamices	pHmetro HANNA	
Pera de succión	Cámara fotográfica	
Rocas de grava sólida	Fibertest	
Cucharas plásticas	Soxtest	
Material para registro de datos	Estufa	
Esferográficos	Mufla	

3.5 Consideraciones bioéticas

La investigación cumplió con los principios de la bioética (beneficencia, precaución, responsabilidad, justicia y autonomía). Ya que la institución donde se realizó el estudio tiene como misión la investigación y ejecución del Plan Estratégico para la conservación de anfibios. Además, procura la participación de los conservacionistas, educadores, científicos y comunidad en la lucha de la mitigación y prevención en el declive de los anfibios, entre otros.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo presenta los resultados del ensayo a través de tres etapas, en la primera etapa se evidencia la influencia de la dieta en el desarrollo de los renacuajos; la segunda etapa recalca la importancia de los componentes nutritivos en el desarrollo de los individuos y tercera etapa se proponen estrategias de conservación *ex situ* de la especie en estudio.

4.1 Comparación del desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) sometidos a las dietas de *Spirulina* y *Taraxacum officinale*

La Tabla 3 representa el resumen de los resultados promedio obtenidos de los datos recolectados de longitud cabeza-cloaca, peso y tiempo total en laboratorio, expresados en las tablas 8, 9, 10, 11 y 12 (en anexos) para las dietas D1: *Spirulina* 100%, D2: *Spirulina* 50% - *T. officinale* 50% y D3: *T. officinale* 100%.

Tabla 3. Resultados promedio dietas

Variables Dieta	Long Cabeza-Cloaca (mm)	Peso (g)	Tiempo Promedio (días)
<i>Spirulina</i>	6,82	0,0292	118
<i>Spirulina</i> - <i>T. officinale</i>	7,77	0,0459	106
<i>T. officinale</i>	6,71	0,0279	111

En la tabla 3 se presentan los resultados promedio de cada una de las variables longitud cabeza-cloaca con valores de 6,82; 7,77 y 6,71 mm para las dietas D1, D2 y D3 respectivamente, siendo de mayor relevancia el promedio de la dieta D2. De los promedios de peso se observan valores de 0,0292; 0,0459 y 0,0279 g en las dietas D1, D2 y D3 respectivamente, donde se evidencia que el promedio de la dieta D2 es la más relevante. De los promedios obtenidos del periodo de metamorfosis del estadio larval a rana 118, 106 y 111 días para las dietas D1, D2 y D3 correspondientemente, de mayor relevancia el promedio de la dieta D2.

Las variables longitud y peso son factores determinantes en la supervivencia de la especie en condiciones de laboratorio. En la dieta D2 se obtuvieron valores relevantes de 7,77 mm en longitud y 0,0459 en peso con el menor tiempo de metamorfosis. Equiparando en estudios de la especie *Atelopus zeteki* y *Atelopus spurrelli* pertenecientes al mismo género proporcionan valores promedio de 6-8 mm de longitud y peso de 0,0465g postmetamorfos (Lindquist y Hetherington, 1998; Bolívar, Burbano, y García, 2014; Martins et al., 2013). Por lo tanto, se evidencia que los individuos están en un rango adecuado en referencia a los valores determinados, ya que al existir menor tamaño y peso o viceversa los individuos están destinados a morir por desnutrición u obesidad. Determinando que la dieta mixta proporcionó nutrientes equilibrados y por ende es viable para la supervivencia y desarrollo de renacuajos.

El tiempo de metamorfosis de la especie fue de 106 días para la dieta *Spirulina-T. officinale*, Armijos (2014) obtuvo un rango promedio de 120 días de metamorfosis. Determinando un rango aceptable en el proceso de la etapa larval.

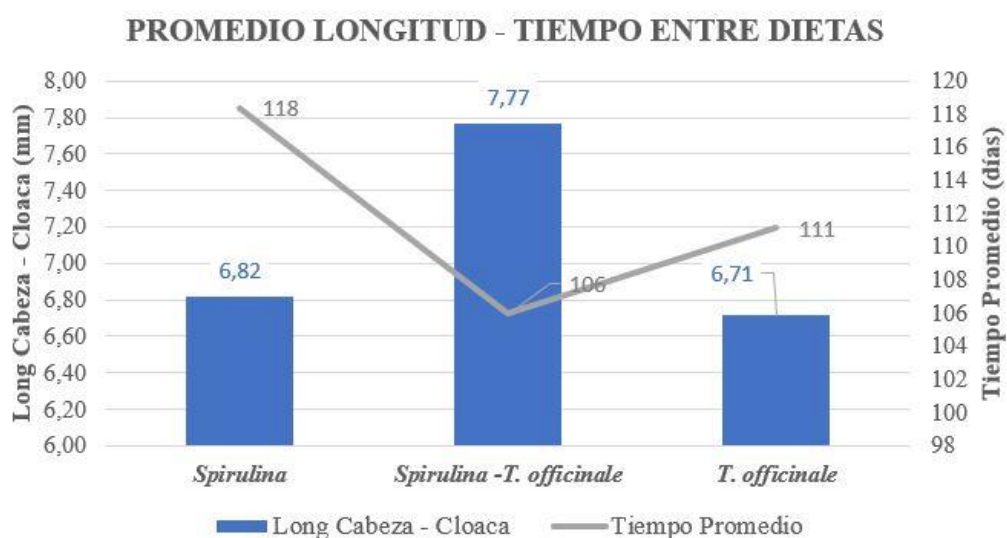


Figura 7. Promedio de longitud y tiempo entre los diferentes tipos de dietas.

La figura 7 representa gráficamente los datos obtenidos de longitud y tiempo, siendo la dieta D2 más representativa con el mayor tamaño en el menor tiempo de metamorfosis.

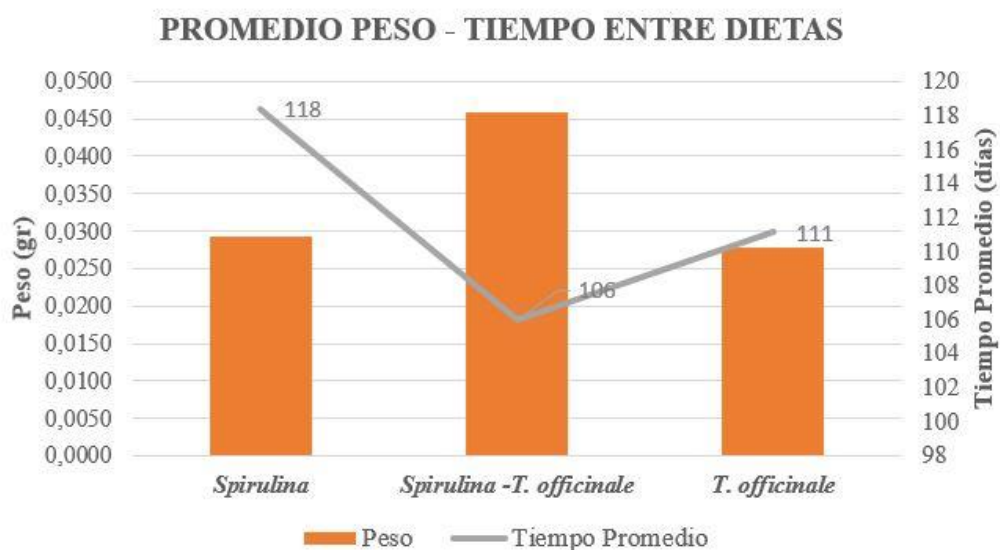


Figura 8. Promedio de peso y tiempo entre los diferentes tipos de dietas.

La figura 8 representa gráficamente los datos obtenidos de peso y tiempo, siendo la dieta D2 la más representativa con el mayor peso en el menor tiempo de metamorfosis.

Soamiarimampionona et al. (2015) en su estudio con la especie *Mantidactylus betsileanus* alimentada con dietas vegetarianas individuales de hojas de mostaza y espirulina resultó menos eficiente que una dieta combinada que presenta una mayor supervivencia, más rápido crecimiento y mayor tamaño en la metamorfosis. Al igual que, en el estudio se evidenció que las dietas individuales de *Spirulina* y *T. officinale* fueron menos nutritivas para el desarrollo y supervivencia de los renacuajos, aunque la dieta mixta de *Spirulina-T. officinale* reportó características similares al estudio. Demostrando que las dietas combinadas son viables para el desarrollo de los individuos.

Camperio et al. (2018) ensayando con *Atelopus* spp. determina que las dietas combinadas son viables para el desarrollo de este género. Lo descrito coincide con los resultados obtenidos en la figura 7 y 8 de la investigación que evidencian una mayor longitud y peso en menor tiempo para la dieta D2, aceptando las dietas mixtas en la etapa larval.

4.2 Comparación de los valores nutricionales de las dietas con el desarrollo de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

De acuerdo a las Tablas 8, 9 y 10 (en anexos) correspondientes a los datos obtenidos en laboratorio. La figura 9 representa la relación entre longitud cabeza-cloaca con cada una de las dietas en sus tres repeticiones y el promedio general entre todas las dietas.

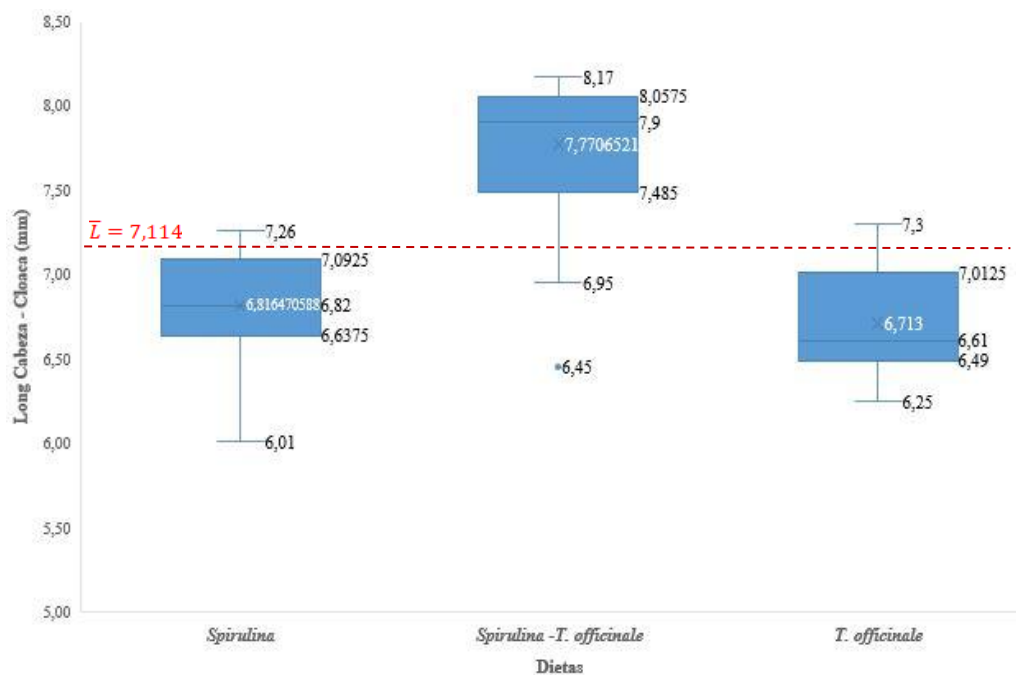


Figura 9. Diagrama de cajas de relación entre longitud cabeza-cloaca y dietas.

En la figura 9 se evidencia que los valores de la variable longitud están más concentrados en la dieta D1, sin embargo, el valor de la media no supera la longitud promedio de todos los individuos; menos del 25% de renacuajos prevalecen del promedio. Al igual que la dieta anterior se pueden observar datos similares para la dieta D3. Mientras que, la mayor dispersión de datos se produce en la dieta D2, pero con valores de longitud altos y más del 75% de individuos supera el promedio de longitud entre todas las dietas. Esta evaluación indica que la dieta D2 otorgó mayor tamaño al finalizar su etapa larvaria.

En la figura 10 se observa que los valores de la variable peso están más concentrados en la dieta D1, sin embargo, analizando el valor del peso promedio de todos los individuos casi ninguno de los renacuajos supera el promedio. Al igual que la dieta anterior se pudo constatar datos similares para la dieta D3 con datos concentrados y menos del 25% han superado el valor promedio en peso de todos los individuos. Mientras que, la mayor dispersión de datos se produce en la dieta D2 con los pesos más altos y más del 75% de individuos superan el promedio en peso entre todas las dietas. De esta evaluación se pudo determinar que la dieta D2 otorgó un mayor peso al finalizar su etapa larval.

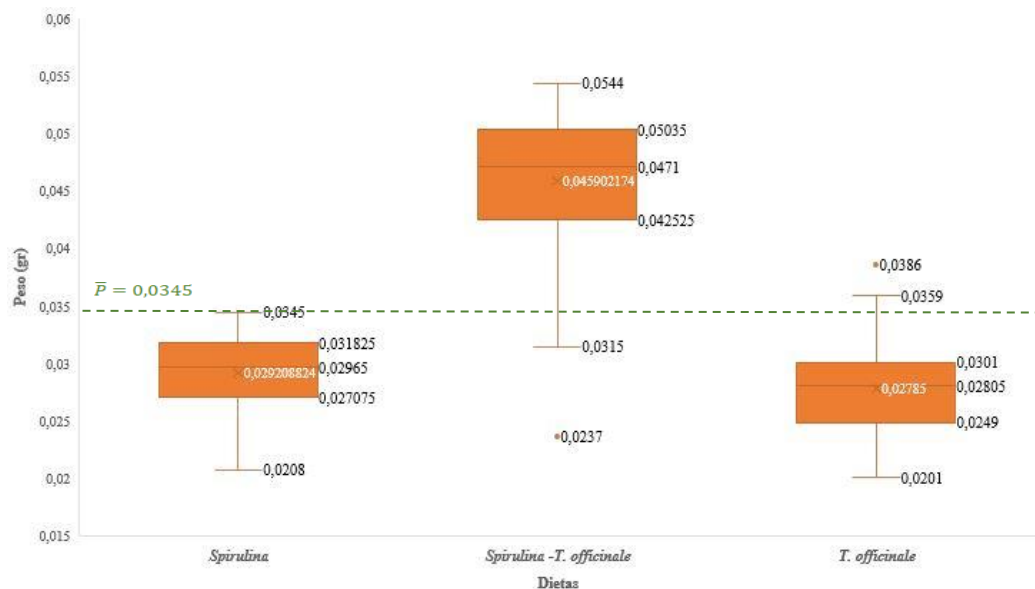


Figura 10. Diagrama de cajas en relación peso y dietas.

La tabla 4 presenta la probabilidad de supervivencia $P(S)$ de las dietas de D1, D2 y D3 de 45,33%; 61,33% y 66,67% respectivamente. Equiparando los valores de supervivencia obtenidos con las figuras 9 y 10, se reafirma que la dieta D2 es más significativa, ya que obtuvo un nivel de supervivencia mayor al 50% y los valores más altos en las variables peso y longitud. Se puede notar un nivel de supervivencia de la dieta D3 mayor al 50%, sin embargo, en las variables longitud y peso obtuvo valores bajos por lo que no es considerada representativa, de igual manera se desestima la dieta D1 al obtener un nivel de supervivencia menor al 50% y valores bajos en las variables longitud y peso.

Tabla 4. Resultados del análisis de supervivencia de los individuos

Peso total alimento	0,75 g					
Peso promedio renacuajos	0,0025 g					
Dietas	n= # individuos iniciales	n= # repeticiones	n= # individuos finales	P(S)%	Diferencia alimento (g)	Diferencia dieta (%)
<i>Spirulina</i>	75	3	34	45,33	0,41	54,67
<i>Spirulina - T. officinale</i>	75	3	46	61,33	0,29	38,67
<i>T. officinale</i>	75	3	50	66,67	0,25	33,33

También en la tabla 4 se expresa la cantidad de alimento suministrado en las tres repeticiones de acuerdo al cálculo inicial por individuo que fue constante durante el crecimiento de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*). Considerando la tasa de supervivencia se determina la diferencia en la cantidad estimada de alimento por individuo, siendo esta para las dietas D1, D2 y D3 un porcentaje de 54,67%; 38,67% y 33,33% respectivamente. Por lo tanto, se determina que este porcentaje corresponde al exceso en la cantidad de alimento según los parámetros tomados inicialmente.

El análisis de supervivencia demuestra que a pesar del exceso de alimento este no fue suficiente para su desarrollo, por lo que se presenta en cada una de las dietas renacuajos con mayor y menor peso (Tablas 10, 11 y 12 en anexos). Con lo evidenciado se confirma la investigación de Altig et al. (2007) donde señala que los renacuajos son oportunistas ante la falta de alimento, por ende, aplican la ley de supervivencia del más fuerte.

Tabla 5. Resultados transformados del análisis bromatológico de las dietas

Parámetros	Taraxaco %	Spirulina %	Mix 1 - 1 %
Proteína Total	0,44	56,4	36,5
Extracto etéreo	0,11	7,7	6
Fibra Total	0,5	4,2	12,8
Carbohidratos totales	0,95	23,78	36,1

En la tabla 5 se muestran los valores del análisis de contenido nutricional resultante en laboratorio (Figura 12 y Tabla 14 en anexos), se evidencia la diferencia de porcentajes de nutrientes en cada una de las dietas, estos deben tener

un equilibrio para la mejor nutrición del individuo. Recalcando las proteínas como un nutriente necesario en el alimento para anfibios, debido a que ayudarán en la formación de músculo y fortalecimiento del sistema inmunológico, imprescindible para el mejor desarrollo de los individuos y los valores no deben ser mayores a 45% ya que produciría obesidad y por ende la muerte (Martínez, Herráez y Álvarez, 1993; Álvarez y Nicieza, 2002; Gleason, Yanh y Karasov, 2016; Camperio et al., 2018). A pesar de la importancia de proteínas también son necesarios otros tipos de nutrientes como: extracto etéreo que absorbe las vitaminas necesarias para el cuerpo; fibra total necesaria para un mejor tránsito intestinal evitando el estreñimiento y por ende el sobrepeso; carbohidratos totales que contribuyen al almacenamiento de energía en el cuerpo, no debe ser mayor al 40% ya que ocasionaría obesidad del renacuajo (Aguiar, 2013).

En contraste con lo anterior, se valora la tasa de supervivencia en relación con las proteínas y carbohidratos que al mantener un balance equilibrado produjeron un mejor desarrollo y salud de los renacuajos. La dieta a base de *Spirulina* reportó valores proteicos (56,4%) mayores al estándar, carbohidratos (23,78%) normales y una tasa de supervivencia del 45,33% con individuos de bajo peso y tamaño (Figura 9 y 10), se determinó que el organismo de los renacuajos fue poco tolerante al exceso de proteína vegetal en la dieta, corroborando lo expuesto por Ramamonjisoa, Rakotonoely, y Natuhara (2017) donde evidenciaron que alimentos con mayor porcentaje de proteínas fueron rechazados por los individuos por la particularidad en el sistema bucal y digestivo, aunque Altig, Whiles y Taylor (2007) mencionan que en la etapa larval son herbívoros y en su hábitat natural se alimentan de algas. La dieta a base de *T. officinale* obtuvo valores proteicos (0,44%) y carbohidratos (0,95%) insignificantes al estándar, una tasa de supervivencia del 66,67% con individuos de bajo peso y tamaño (Figura 9 y 10), se evidenció la desnutrición y posterior muerte de renacuajos. Siendo rechazadas para la alimentación de los renacuajos.

La dieta mixta (*Spirulina* - *T. officinale*) presentó valores proteicos (36,5%) y carbohidratos (36,1%) en un rango favorable, tasa de supervivencia del 61,33%

con individuos de peso y tamaño adecuados para el desarrollo postmetamorfo (Figura 9 y 10). Conocidos los valores nutricionales y la tasa de supervivencia se corroboró que la dieta mixta (*Spirulina* - *T. officinale*) es recomendable para la alimentación de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*), ya que los porcentajes se encuentran equilibrados otorgando una longitud y peso efectivo presentes en las figuras 9 y 10 respectivamente. Sin embargo, Aguiar (2013), Arbeláez (2014) y Ramamonjisoa et al. (2017) en sus investigaciones demostraron que los nutrientes de cada tratamiento dietético influyen en el desarrollo de la etapa larval, compararon los valores de proteínas en dietas carnívoras y vegetarianas, la primera produjo individuos más saludables y con menor tiempo de crecimiento, en cambio la segunda tuvo resultados inversos descartando la dieta vegetal individual y promoviendo la ingesta de un suplemento a base de proteína animal. A pesar de los antecedentes mencionados, el presente estudio demostró que no es necesario la ingesta de proteína animal, ya que la combinación entre dos tipos de proteínas netamente vegetales se obtienen resultados favorables para el desarrollo de los individuos.

4.3 Propuestas de estrategias para la conservación ex situ de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

En el transcurso del estudio y con los resultados obtenidos, se evidenciaron varias observaciones que permitieron la deducción de problemas presentes en la supervivencia de los renacuajos afectando en su desarrollo hasta su etapa adulta. Por lo que, se plantean estrategias que salvaguarden la conservación de la rana.

4.3.1 Experimentación con dietas vegetarianas para determinar el alimento viable en el desarrollo de renacuajos de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*)

Descripción

Conservar la especie en condiciones de laboratorio es un trabajo arduo que implica el cuidado minucioso desde la eclosión de huevos hasta la etapa adulta. La

dieta es un factor clave en el desarrollo de renacuajos ya que al alimentarse con materias primas erróneas provocarían la desnutrición u obesidad de los individuos y por ende la muerte.

Justificación

Como se menciona en los capítulos anteriores, la conservación y preservación de la rana es de vital importancia debido al valor endémico y emblemático que la caracteriza (Salazar-Valenzuela, 2007; Armijos, 2014). La supervivencia en etapa larval es moderada debido a factores nutricionales que determinan el peso y tamaño adecuado para el desarrollo (Alvear, 2018). Evidenciando la problemática se propone realizar ensayos combinando diferentes alimentos vegetales con nutrientes equilibrados fáciles de conseguir en el entorno cerca al laboratorio y con ello, reducir la tasa de mortalidad y tener individuos saludables para su posterior reintroducción.

Objetivos

- Determinar la dieta vegetariana viable para el desarrollo en renacuajos.
- Obtener la cantidad de alimento y densidad de individuos adecuados para la mejor asimilación de la dieta.
- Determinar la temperatura y parámetros fisicoquímicos adecuados para el desarrollo de renacuajos.

Desarrollo

La presente estrategia es dirigida a estudiantes de pregrado, herpetólogos y afines al interés en conservar la comunidad anfibia que debido a factores antrópicos está en declive (Camperio et al., 2018). Se pretende proporcionar información que puede ser utilizada en investigaciones sobre la alimentación de renacuajos de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) (Tabla 6).

Tabla 6. Actividades para la experimentación con dietas vegetarianas en renacuajos

Actividad 1			
Seleccionar los diferentes alimentos vegetales, temperatura y parámetros fisicoquímicos			
Objetivo	Responsables	Actividades previstas	Indicadores
-Recolectar los alimentos vegetales para realizar ensayos con renacuajos.	-Técnicos de laboratorio. -Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Realizar pruebas bromatológicas. -Plantear el número de repeticiones. -Determinar diferentes combinaciones de alimento para cada repetición. -Probar con diferentes temperaturas	-La combinación de los alimentos vegetales. -El registro de temperatura -Registro de los parámetros de agua
Actividad 2			
Determinar la cantidad para la combinación de los alimentos vegetales			
Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
-Determinar los porcentajes para suministrar el alimento.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Realizar el proceso de cálculo para la determinación de cantidades de cada alimento. -Preparar la solución homogénea a suministrar en cada repetición.	-El porcentaje de alimento.
Actividad 3			
Registro de la cantidad de alimento inicial por individuo			
Objetivo	Responsables	Actividades previstas	Indicadores
-Definir la cantidad de alimento por individuo.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Elaboración del esquema para el registro de la cantidad de alimento. -Registrar las cantidades de alimento reportadas.	-Número de registros.
Actividad 4			
Evaluar la tasa de supervivencia semanalmente			
Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
- Obtener el registro de supervivencia semanal de los renacuajos.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Elaboración del esquema para el registro de individuos. -Registrar los individuos sobrevivientes.	-Número de individuos.

Actividad 5**Recalcular la cantidad de alimento de acuerdo al registro de supervivencia**

Objetivo	Responsable	Actividades previas	Indicadores
-Determinar la cantidad adecuada de alimento por individuo a suministrar.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Calcular la cantidad de alimento. -Registrar las cantidades de alimento. -Pesar la cantidad de alimento requerida en la balanza. -Alimentar con la nueva porción hasta el siguiente recalcular.	-Cantidad de alimento.

Actividad 6**Evaluación del desarrollo de los renacuajos**

Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
-Analizar el valor efectivo para los porcentajes de combinación entre repeticiones.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Evaluar peso, tamaño y tiempo de metamorfosis del renacuajo. -Evaluar la tasa de supervivencia. -Verificar los resultados favorables.	-Resultados del análisis.

Actividades 7**Registrar por observación parámetros cualitativos de peso, tamaño del renacuajo y cantidad sobrante de alimento**

Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
-Determinar otros factores para el cálculo de la cantidad de alimento mensualmente.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Elaboración de un check list de observación de los parámetros mencionados. -Observar y registrar en el check list. -Evaluar los factores y determinar una variable para el aumento o disminución del alimento.	-Diferencia en los parámetros cualitativos observados.

4.3.2 Manejo en laboratorio de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) en etapa juvenil y adulta

Descripción

El desarrollo postmetamorfo incluye diferentes parámetros ambientales y dietéticos que garanticen la supervivencia de los individuos, por ello, se efectuaran monitoreos para identificar causas de la muerte (Poole, 2009).

Justificación

Finalizada la etapa larval es necesario el monitoreo de ranas juveniles, al existir el riesgo de muerte postmetamorfo las causas varían según las circunstancias como fue el desarrollo en renacuajo (desnutrición, obesidad, enfermedad, entre otros). El continuo monitoreo promovería el interés en indagar soluciones que eviten la muerte de los individuos y alcance la etapa adulta (Estrada et al., 2014).

Objetivos

- Proponer nuevos sustratos para el terrario mejorando la adaptación y desarrollo de ranas juveniles.
- Investigar en dietas que ayuden en el desarrollo de los individuos hasta su etapa adulta.
- Determinar factores ambientales viables para conservar la especie en laboratorio.

Desarrollo

Es necesario la investigación e implementación de diferentes parámetros para mejorar el desarrollo de las ranas y presenten las condiciones necesarias para posteriormente ser reintroducidas y repueblen su hábitat natural. Esta estrategia estará compuesta de actividades que generen buenos resultados en la crianza en ranas juveniles y adultas evitando su muerte.

Tabla 7. Actividades para la supervivencia de la rana en etapa juvenil y adulta

Actividad 1			
Acondicionar el área para el desarrollo de ranas juveniles.			
Objetivo	Responsables	Actividades previstas	Indicadores
-Adaptar la rana juvenil en el entorno para su desarrollo.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Seleccionar los materiales para implementar en el terrario. -Usar la debida asepsia en todo el transcurso de la implementación de las ranas en el terrario. -Registrar el número de individuos en el terrario. -Observar previamente la adaptación de las ranas en el medio. -Registrar el número de muerte si es el caso.	-Número de individuos sobrevivientes.
Actividad 2			
Verificar continuamente los parámetros ambientales del terrario			
Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
-Evitar la muerte de los individuos por patógenos.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Verificar con los equipos necesarios los factores de humedad y temperatura en el terrario. -Registrar los datos de humedad y temperatura del terrario. -Visualizar la existencia de agentes patógenos. -Verificar alteraciones en el entorno. -Utilizar la debida asepsia para la manipulación de equipos, individuos y sustratos.	-Variación de humedad y temperatura.
Actividad 3			
Suministrar el alimento adecuado para el desarrollo de las ranas.			
Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores

-Obtener ranas con buen estado de salud para la supervivencia a largo plazo.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Indagar en dietas que contengan los debidos nutrientes y puedan ser ingeridos sin dificultad por las ranas juveniles. -Determinar la cantidad y tamaño de los insectos en referencia al aparato bucal de las ranas, ya que al ser demasiado grandes no podrán ingerirlos. -Verificar y eliminar el excedente de comida para evitar la proliferación de hongos. -Visualizar y registrar cambios en la morfología en la rana (peso y tamaño).	Aumento de peso y tamaño.
--	---	---	---------------------------

Actividad 4

Evaluación del nivel de adaptación de ranas en laboratorio

Objetivo	Responsable	Actividades previstas	Indicadores
-Determinar el nivel de adaptación en las condiciones propuestas.	-Técnicos responsables. -Estudiantes universitarios.	-Registrar el número de individuos sobrevivientes. -Verificar el peso y tamaño de n individuos y comparar con el peso y tamaño estándar que deben presentar en laboratorio.	Registro de individuos sobrevivientes, peso y tamaño.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- La dieta mixta a base de *Spirulina* 50% y *Taraxacum officinale* 50% reporta valores en longitud cabeza-cloaca de 7,77 mm; peso 0,0459 g y tiempo de 106 días en la metamorfosis, siendo viable en desarrollo y supervivencia de los renacuajos de *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*). En comparación de las dietas individuales a base de *Spirulina* 100% con valores de 6,82mm; peso 0,0292g en 118 días y *Taraxacum officinale* 100% con valores de 6,71mm; peso 0,0279g en 111 días, reporta valores menores y evidencia que las dietas individuales no son favorables para la supervivencia y desarrollo de los renacuajos.
- El análisis bromatológico de los componentes nutricionales de la dieta mixta (*Spirulina* y *Taraxacum officinale*) reporta valores en proteína 36,5% y carbohidratos 36,1%, es una dieta equilibrada en nutrientes y es favorable en el desarrollo de los renacuajos. En comparación de la dieta a base de *Spirulina* reporta valores en proteína de 56,4% mayores al rango óptimo establecido, evidenciando una mayor tasa de mortalidad debido a la poca tolerancia del organismo a porcentajes altos de proteína y la dieta a base de *T. officinale* el porcentaje de proteína fue insignificante y no es favorable para el desarrollo de los renacuajos.
- Se proponen estrategias en experimentación con diferentes tipos de dietas para el mejor desarrollo de los renacuajos y el manejo en etapa juvenil hasta adulto en condiciones adecuadas para su supervivencia en laboratorio y posteriormente sean reintroducidos.

5.2 Recomendaciones

- Continuar con ensayos de dietas netamente vegetarianas combinadas y provenientes de la zona endémica de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) que puedan ser cultivadas en el laboratorio, además determinar las cantidades de alimento y contenido nutricional factible para el desarrollo.
- Optimizar recursos económicos realizando ensayos con diferentes dietas que se encuentren cercanos al laboratorio y contengan valores nutricionales viables.
- Aplicar las estrategias propuestas de conservación *ex situ* de la rana *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*).

REFERENCIAS

- Acosta López, D. (2012). “*Dinámica de dos poblaciones de Atelopus del complejo spumarius (Anura: Bufonidae) en la Amazonía ecuatoriana*”. (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Adams, A., Kupferberg, S., Wilber, M., Pessier, A., Grepsrud, M., Bobzien, S., Vredenburg, V. y Briggs, C. (2017). “Extreme drought, host density, sex, and bullfrogs influence fungal pathogen infection in a declining lotic amphibian”. *Ecosphere*, University of California, USA, Edition 8.
- Aguir, G. (2013). “*Influencia de la dieta y la temperatura en el crecimiento de renacuajos durante los estadíos 21, 22, 23, 26, 32, 38 y en estadio juvenil de la rana Ceratophrys stolzmanni en laboratorio*”. (Tesis de Pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- Aguirre, C., y Vizcaíno, M. (2009). “Aplicación de estimadores estadísticos y diseños experimentales en investigaciones forestales”. Universidad Técnica del Norte, Ibarra.
- Altig, R., Whiles, M., y Taylor, C. (2007). What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biology*, (52), 386–395.
- Álvarez, D., y Nicieza, A. (2002). Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis. *Functional Ecology*, 16 (5), 640–648.
- Alvear, Y. (2018). “*Posibles causas de muerte en anfibios Atelopus limon del año 2104 mediante necropsia e histopatología en el Centro de Conservación La Balsa de los Sapos*”. (Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista). Universidad de Las Américas, Quito.
- Amin Mir, M., Sawhney, S. y Jassal, M. (2012). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. *Wudpecker Journal of Pharmacy and Parmocology*, 2 (1), 001–005.
- Amphibian Ark. (2019). *The EDGE Fellowship Programme*. Obtenido de <http://www.amphibianark.org/es/>

- AmphibiaWeb. (2019). Worldwide Amphibian Declines: What is the scope of the problem, what are the causes, and what can be done. Obtenido de <http://www.amphibiaweb.org/declines/declines.html>
- Anderson (2009). Obesity management an opportunity for cancer prevention. *Surgeon* 7(5):282-285.
- Antwis, R., Preziosi, R., Harrison, X. y Garner, T. (2015). “Amphibian Symbiotic Bacteria Do Not Show a Universal Ability To Inhibit Growth of the Global Panzootic Lineage of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 81 (11), 3706-3711.
- Arango, M. (2006). Plantas Medicinales. Universidad de Caldas, Manizales.
- Arbeláez, E., y Vega, D. (2014). *Aspectos del desarrollo de Gastrotheca litonedis, 1987 (anura: hemiphractidae) en cautiverio*. (Tesis de Pregrado). Universidad del Azuay, Cuenca.
- Armijos, J. (2014). *Diseño de una estrategia técnica para la reintroducción de Atelopus sp. (complejo spumarius) a su hábitat natural en cuatro cantones de Morona Santiago*, (Tesis de Pregrado). Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Balvanera, P. (2012). Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. *SCIImago Journal & Country Rank*, 21 (2), 136-147.
- Belay, A. (2002). The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *The Journal of the American Nutraceutical Association*, 5 (2), 27-48.
- Benito de Pando, B. y Peñas de Giles, J. (2007). Aplicación de modelos de distribución de especies a la conservación de la biodiversidad en el suroeste de la Península Ibérica. *GeoFus*, 7, 100-119.
- Blaustein, A., y Wake, D. (1990). Declining amphibian populations: A global phenomenon?. *Science Direct*, 5, 203-204.
- Bradfield, K. (2010). Managing water quality for amphibians in captivity. Obtenido de <http://www.amphibianark.org/es/>
- Bustamante, M., Ron, S., y Coloma, L. (2005). Cambios en la diversidad en siete comunidades de anuros en los Andes de Ecuador. *Biotropica*, 37 (2), 180-189.

- Cáceres, J. (2014). *Análisis Exploratorio de datos para desarrollar propuestas de conservación de la comunidad de anfibios referentes al Batrachochytrium dendrobatidis en el Parque Nacional Cajas, Cuenca, Ecuador*. (Tesis de Maestría). Cuenca: Universidad del Azuay.
- Calles, J. (2007). *Bioindicadores terrestres y acuáticos para las microcuencas de los ríos Illangama y Alumbre, provincia Bolívar*. Quito: EcoCiencia, Ecuador.
- Campbell, N., Lawrence, M. y Reece, J. (2000). *Biology: concepts & connections*. San Francisco, Estados Unidos de América: Addison Wesley Longman.
- Camperio, J., Guerrel, J., Baitchman, E., Diaz, R., Evans, M., Ibáñez, R., Ross, H., Klaphake, E., Nissen, B., Pessier, A., Power, M., Arlotta, C., Snellgrove, D., Wilson, D. y Gratwicke, B. (2018). The relationship between spindly leg syndrome incidence and water composition, overfeeding, and diet in newly metamorphosed harlequin frogs (*Atelopus* spp.). *PLoS ONE*, 13(10): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204314>.
- Carmona-Osalde, C., Olvera-Novoa, M., Rodríguez-Serna, M. y Flores-Nava, A. (1996). Estimation of the protein requirement for bullfrog (*Rana catesbeiana*) tadpoles, and its effect on metamorphosis ratio. *Aquaculture*, 141, 223-231.
- Carrera, A. (2016). *Determinación microbiológica y de metales pesados en toronjil (Melissa officinalis) y taraxaco (Taraxacum officinale), expendidos en los diferentes mercados del Distrito Metropolitano de Quito*. (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Cifuentes, J., Torres-García, M., y Frías, M. (1997). *Acuicultura*. México: Fondo de Cultura Económica.
- Código Orgánico del Ambiente (2017). *Registro oficial*, 983. (12 de abril del 2017).
- Constitución de la República del Ecuador (2008). *Registro Oficial*, 449. (20 de octubre del 2008).
- Convenio de la Diversidad Biológica (1992). *Registro Oficial*, 647. (5 de junio de 1992).

- Corredor, G., Velásquez, B., Velasco, J., Castro, F., Bolívar, W. y Salazar, M. (2004). *Plan de Acción para la Conservación de los Anfibios del Departamento del Valle del Cauca*. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca- CVC-2007 Publicación de la Dirección Técnica Ambiental. Santiago de Cali – Colombia.
- Dorado, O. y Arias, D. (2007). Reforestar o restaurar para la recuperación ambiental. *Inventio, la genesis de la cultura universitaria en Morelos*, 2 (3), 34-38.
- Estrada, A., Gratwicke, B., Benedetti, A., Dellatogna, G., Garrelle, D., Griffith, E., Ibañez, R., Ryan, S. y Miller, P. (2014). *The Golden Frogs of Panama (Atelopus zeteki, A. varius): A Conservation Planning Workshop*. Panamá: Conservation Breeding Specialist Group.
- Fioranelli, A., Barboza, N., Koza, G., Mussart, N y Coppo, J. (2005). Influencia de distintos tipos de alimentos sobre los indicadores nutricionales y metabólicos en sangre de rana toro, *Rana catesbeiana*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, 1 - 4.
- Fisher, M., Garner, T. y Walker, S. (2009). *Global Emergence of Batrachochytrium dendrobatidis and Amphibian Chytridiomycosis in Space, Time, and Host. Annual Review of Microbiology*, 63, 291-310.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Universidad de Antioquia. Antioquia.
- Gascon, C., Collins, J., Moore, R., Church, D., McKay, J. y Mendelson III, J. (2007). *Amphibian Conservation Action Plan. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN/SSC Amphibian Specialist Group*.
- Gillespie, G., Traher, R., y Banks, C. (2007). *ARAZPA Amphibian Action Plan. Amphibian Ark. Australasia*.
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Limón Indanza. (2007). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Limón Indanza*. Morona Santiago. Ecuador.
- Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural Yunganza. (2007). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Parroquia “Yunganza” 2015*. Morona Santiago. Ecuador.

- Gómez, D., Bolívar, W., Burbano, C. y García, J. (2014). Evaluación poblacional y estrategia de monitoreo para *Atelopus spurrelli* en el Parque Nacional Utría, Colombia. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 4 (2), 104-120. Doi: 0.18636/bioneotropical.v4i2.136.
- Gosner, L. (1960). A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica*, 183-190.
- Guo-Hua, D., Zhi-Hua, L., Xiao-Li, F. y Xiang, J. (2015). The combined effects of food supply and larval density on survival, growth and metamorphosis of Chinese tiger frog (*Hoplobatrachus rugulosa*) tadpoles. *Aquaculture*, 435, 398 – 402.
- Hayes, B., Falso, P., Gallipeau, S., y Stice, M. (2010). “The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist’s perspective. *The Journal of Experimental Biology*, 213, 921-933.
- Houlahan, J., Findlay, C., Schmidt, B., Meyer, A. y Kuzmin, S. (2000). Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404, 752-755.
- Instituto Geográfico Militar. (2013). Cartografía de Ecuador. Quito.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (2010). *VI Censo de Población y V de Vivienda: Cantón “Limón Indanza”*.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (2018). Temperatura y precipitación del Cantón Limón Indanza. Morona Santiago. Ecuador.
- Koleff, P., Urquiza-Haas, T., y Contreas, B. (2012). Prioridades de conservación de los bosques tropicales en México: reflexiones sobre su estado de conservación y manejo. *SCImago Journal & Country Rank*, 21 (2), 6-20.
- La Marca, E., Lips, K., Lötters, S., Puschendorf, R., Ibáñez, R., Rueda-Almonacid, J., Schulte, R., Marty, C., Castro, F., Manzanilla-Puppo, J., García-Pérez, J., Bolaños, F., Chaves, G., Pounds, J., Toral, E., & Young, B. (2005). Catastrophic Population Declines and Extinctions in Neotropical Harlequin Frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica*, 37(2), 190-201.
- Lindquist, E. y Hetherington, T. (1998). Tadpoles and juveniles of the panamanian golden frog, *Atelopus zeteki* (Bufonidae) with information on development of coloration and patterning. *Herpetologica*, 50, 370-376.

- Longcore, J., Pessier, A., y Nichols, D., (1998). *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. Nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia*, 91 (2). 219-227.
- Lötters, S., Van Der Meijden, A., Coloma, L., Boistel, R., Cloetens, P., Ernst, R., Lehr, E., y Veith, M., (2011). Assessing the molecular phylogeny of a near extinct group of vertebrates: the Neotropical harlequin frogs (Bufonidae; *Atelopus*), Systematics and Biodiversity, 9:1, 45-57, DOI: 10.1080/14772000.2011.557403.
- Martínez, I., Herráez, M. y Álvarez, R. (1993). Optimal level of dietary protein for *Rana perezii* Seoane larvae. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24, 271-278.
- Martins, F., do Mar Oom, M., Rebelo, R. y Rosa, G. (2013). Differential Effects of Dietary Protein on Early Life-History and Morphological Traits in Natterjack Toad (*Epidalea calamita*) Tadpoles Reared in Captivity. *Wiley Online Library*, 32, 457-462.
- Matson, P., Gaikhorst, G., Kappelle, W., Webb, S. y Brown, S. (2010). Enriched diets and the growth, development and survival of *Litoria moorei* (Anura) tadpoles reared in captivity at low density. *Asian Herpetological Research*, 1 (2), 103-110. Doi: 10.3724 / SP.J.1245.2010.000103.
- Merino-Viteri, A. (2001). *Análisis de posibles causas de las disminuciones de poblaciones de anfibios en los Andes del Ecuador*. (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Merino, A., Peña, P., Salazar, D. y Proaño, C. (2006). Population status and behavior of a threatened wild population of *Atelopus* sp. From southeastern Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2012). Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Subsecretaría de Patrimonio Natural. Quito.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2019). La educación ambiental, tema que involucra a todos. Quito.

- Moore, R. y Mendelson III, J. (2008). Amphibian conservation at the global, regional and national level. *Monografie del Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino*, 45. 15-20.
- Navarrete, R. C. (2005). *La preservación de la biodiversidad, el medio ambiente y la utilización de los recursos naturales para impulsar el desarrollo sustentable y la seguridad (Tesis de Maestría)*. Quito: Instituto de Altos Estudios Nacionales.
- Odum, R. y Zippel, K. (2008). Amphibian water quality: approaches to an essential environmental parameter. *International Zoo Yearbook*, 42. 40-52.
- Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (2005). Gaithersburg, USA.
- Oram, R. (2000). *Biología Sistemas Vivos*. Santa Fe: McGraw-Hill Companies.
- Ordenanza Municipal para declarar a *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*) como especie emblemática del cantón Limón Indanza y proteger sus poblaciones remanentes y hábitat (2007). *Registro oficial*, 417. (31 de marzo de 2011).
- Peña-Loyola, P. (2007). “*Período de actividad, comunicación y aspectos de historia natural de una de las ultimas ranas arlequín (Bufonidae: Atelopus) del Ecuador*”. (Tesis de Licenciatura). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Pelegrín, E., Fraga, I., Álvarez, S., Galindo, J. y Barbarito, J. (2004). Efecto de diferentes niveles de proteína en la dieta de renacuajos de Rana Toro (*Rana catesbeiana*). *Comunicación Científica CIVA*. Centro de Investigaciones Pesqueras, La Habana (Cuba). 557-565.
- Ponce, E. (2013). Superalimento para un mundo en crisis: Spirulina a bajo costo. *IDESIA*, 31(1). 135-139.
- Primack, R., Rozzi R, Feinsinger, P., Dirzo R, y Massardo F. (2013). *Fundamentos de conservación biológica. Perspectivas latinoamericanas*. Bogotá: Fondo de Cultura Económica.
- Ramamonjisoa, N., Rakotonoely, H. y Natuhara, Y. (2017). Food preference in Relation to Resource Toughness and Protein Level in a Pond Dwelling Tadpoles. *Journal of Herpetology*, 51, 47-51.

- Ron, S., Guayasamin, J., Yanez-Muñoz, M., Merino-Viteri, A., Ortiz, D. y Nicolalde, D. (2017). Obtenido de <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios>
- Rueda, J., Rodríguez, J., La Marca, E., Lötters, S., Kahn, T. y Angulo, A. (2005). "Ranas Arlequines. Bogotá": Serie Libreta de Campo.
- Salazar-Valenzuela, D. (2007). "*Demografía e historia natural de una de las últimas ranas arlequín (Atelopus sp.) (Anura: Bufonidae) del Ecuador*". (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
- Schad, K. (2008). *Amphibian Population Management Guidelines*. San Diego. Obtenido de www.amphibianark.org
- SENPLADES. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo (2017-2021)*. Quito.
- Servín, E. (2011). *Manual de mantenimiento en cautiverio y medicina veterinaria aplicada al ajolote de Xochimilco (Ambystoma mexicanum) en el zoológico de Chapultepec*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.
- Sierra, R. (1999). *Vegetación Remanente del Ecuador Continental*. Quito: Proyecto INEGAN/GEF and Wildlife Conservation Society.
- Soamiarimampionona, J., Samina Sam, S., Dolch, R., Klymus, K., Rabemananjara, F., Robsomanitrondrasana, E., Rakotoarisoa, J., y Edmonds, D., (2015). Effects of three diets on development of *Mantidactylus betsileanus* larvae in captivity. *Alytes International Journal of Batrachology*, 32, 7-15.
- Stuart, S., Chanson, J., Cox, N., Joven, B., Rodrigues, A., Fischman, D., y Waller, R. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306 (5702), 1783-1786.
- UICN (2019). *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2019-2. Obtenido de <http://www.iucnredlist.org>
- Wells, M y Brandon, K. (1993). The principles and practice of buffer zones and local participation in biodiversity conservation. *BINABITROP*, 22 (2), 157-162.

ANEXOS

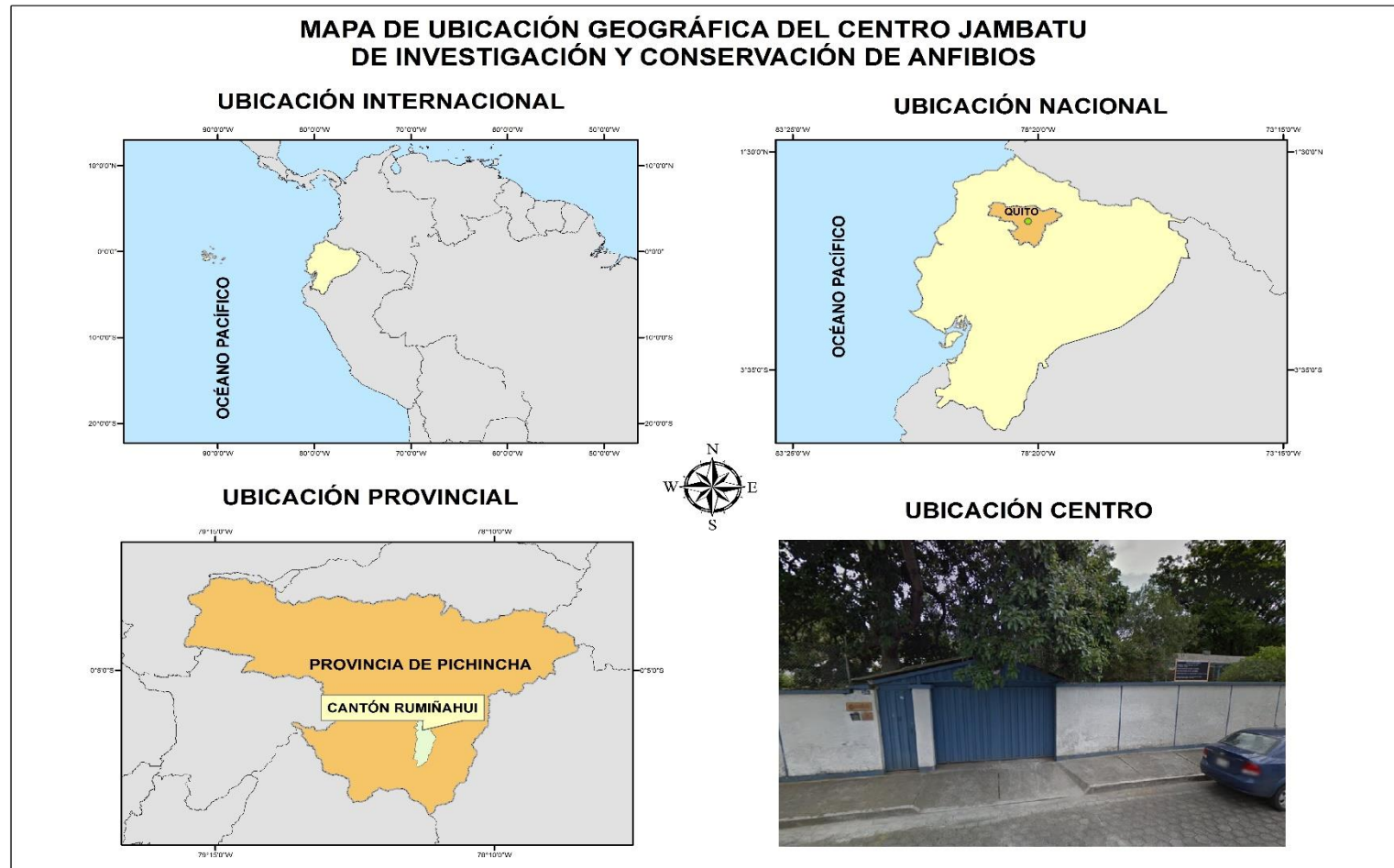


Figura 11. Mapa de ubicación del laboratorio para el ensayo de la especie *Atelopus* sp. (complejo *spumarius*).



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

UNIVERSIDAD ACREDITADA RESOLUCIÓN 002 – CONEA – 2010 – 129 – DC.

Resolución No. 001 – 073 – CEAACES – 2013 – 13

FICAYA

Laboratorio de Análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos

Informe N°:	58 - 2017
Análisis solicitado por:	Srta. Jessica Huera
Empresa:	No aplica
Muestreado:	Propietario
Fecha de recepción:	08 de diciembre de 2017
Fecha de entrega informe:	15 de diciembre de 2017
Ciudad:	Ibarra
Provincia:	Imbabura
Muestra:	Taraxaco-Spirulina
No. Unidades Analizadas	3

Análisis Químico

Parámetro Analizado	Unidad	Resultado			Metodo de ensayo
		Taraxaco	Spirulina	Mix 1-1	
Agua	%	97,33	5,12	4,8	AOAC 925.10
Cenizas	%	0,67	2,80	3,8	AOAC 923.03
Proteína Total	%	16,5*	56,40	36,5	AOAC 920.87
Extracto etéreo	%	4,27*	7,70	6,0	AOAC 920.85
Fibra Total	%	21,4*	4,20	12,8	AOAC 978.10
Carbohidratos Totales	%	74,5*	27,98	49,0	cálculo

*Resultados expresados en Base Seca de materia

Los resultados obtenidos pertenecen exclusivamente para las muestras analizadas

Atentamente:


Blaq. José Luis Moreno

Técnico de Laboratorio



Visión Institucional

La Universidad Técnica del Norte en el año 2020, será un referente en ciencia, tecnología e innovación en el país, con estándares de excelencia institucionales.

Av. 17 de Julio S-21 y José María
Córdova. Barrio El Olivo.
Teléfono: (06)2997800
Fax: Ext: 7711.
Email: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec
Ibarra - Ecuador

Figura 12. Resultados prueba bromatológica.

Tabla 8. Datos de las repeticiones de la dieta a base de *Spirulina*

Repeticiones		A1			A2			A3		
Dieta	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	
1	7,26	0,0345	115	7,02	0,0308	120	6,81	0,0298	120	
1	7,12	0,0321	115	6,67	0,0278	120	6,69	0,0276	120	
1	6,53	0,0268	115	7,03	0,0307	120	7,07	0,0319	120	
1	6,64	0,0272	115	7,25	0,0345	120	6,85	0,0305	120	
1	6,42	0,0249	115	7,12	0,0336	120	6,79	0,0295	120	
1	7,09	0,0318	115	7,1	0,0327	120	6,93	0,0312	120	
1	6,63	0,0271	115	7,17	0,0339	120	6,6	0,0266	120	
1	7,11	0,0305	115	6,54	0,0258	120	6,73	0,0285	120	
1	7,05	0,0295	115	7,1	0,0321	120	6,62	0,027	120	
1	6,68	0,028	115	6,83	0,0301	120	6,89	0,0303	120	
1	6,73	0,0288	115	6,64	0,0252	120				
1				6,01	0,0208	120				
1				6,04	0,021	120				

Tabla 9. Datos de las repeticiones de la dieta a base de *Spirulina - Taraxacum officinale*

Repeticiones		B1			B2			B3		
Dieta	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	
2	7,97	0,0492	111	8,1	0,0528	104	7,26	0,0355	103	
2	8,05	0,0495	111	8,04	0,0491	104	8,11	0,053	103	
2	7,68	0,0476	111	7,98	0,0456	104	8,1	0,0526	103	
2	7,49	0,0414	111	8,11	0,0533	104	7,42	0,0406	103	
2	7,35	0,0383	111	8,01	0,0488	104	7,84	0,0436	103	
2	6,45	0,0237	111	8,15	0,0536	104	8,04	0,0473	103	
2	7,85	0,0435	111	8,17	0,0544	104	8,03	0,0472	103	
2	7,41	0,0407	111	8,14	0,0532	104	7,76	0,0475	103	
2	7,46	0,0411	111	8,05	0,0497	104	7,47	0,0396	103	
2	7,33	0,0369	111	8,11	0,0531	104	7,54	0,0461	103	
2	7,53	0,0463	111	7,92	0,0455	104	7,28	0,0356	103	
2	7,94	0,0489	111	7,88	0,0435	104	7,56	0,0465	103	
2	6,95	0,0315	111	7,79	0,043	104	7,62	0,047	103	
2	7,45	0,0429	111	7,95	0,0458	104	8,08	0,0523	103	
2	7,72	0,0482	111	8,03	0,0495	104				
2				8,12	0,0523	104				
2				8,16	0,0542	104				

Tabla 10. Datos de las repeticiones de la dieta a base de *Taraxacum officinale*

Repeticiones		C1			C2			C3		
Dieta	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	Long mm	Peso g	T/ días	
3	6,73	0,0269	111	6,53	0,0238	104	7,21	0,0352	118	
3	7,08	0,0308	111	6,55	0,0284	104	6,49	0,0238	118	
3	7,17	0,033	111	7,09	0,0315	104	6,38	0,0222	118	
3	6,89	0,0296	111	6,45	0,0264	104	6,62	0,0289	118	
3	6,53	0,0264	111	6,61	0,0386	104	6,55	0,0253	118	
3	6,61	0,0275	111	6,59	0,0278	104	7,05	0,0296	118	
3	6,6	0,0277	111	6,62	0,0283	104	7,3	0,0359	118	
3	6,45	0,0256	111	6,34	0,0201	104	7,15	0,0328	118	
3	6,58	0,027	111	7,06	0,0314	104	6,25	0,0212	118	
3	6,49	0,0259	111	6,49	0,0231	104	6,32	0,0225	118	
3	7,01	0,0295	111	6,5	0,0233	104	6,45	0,0235	118	
3	6,83	0,0287	111	6,72	0,0298	104	6,53	0,0249	118	
3	6,42	0,0249	111	6,58	0,0275	104	7,02	0,0294	118	
3	7,05	0,0301	111	6,8	0,0301	104	6,67	0,0293	118	
3	7,15	0,0329	111	6,35	0,0205	104	6,55	0,0251	118	
3	6,85	0,0292	111	7,05	0,031	104	6,93	0,0301	118	
3	6,4	0,0245	111				7,01	0,031	118	

Tabla 11. Análisis de varianza en función de la variable longitud (mm)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Long Cabeza - Cloaca	9	0,93	0,91	2,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,99	2	1,00	39,34	0,0004
Dietas	1,99	2	1,00	39,34	0,0004
Error	0,15	6	0,03		
Total	2,14	8			

Test: Duncan**Alfa= 0,05**

Error: 0,0253

gl: 6

Dietas	Medias	n	E.E	
<i>T. officinale</i>	6,71	3	0,09	A
<i>Spirulina</i>	6,82	3	0,09	A
<i>Spirulina</i> - <i>T. officinale</i>	7,76	3	0,09	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 12. Análisis de varianza en función de la variable peso (g)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso	9	0,95	0,93	6,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,9E-04	2	3,0E-04	56,62	0,0001
Dietas	5,9E-04	2	3,0E-04	56,62	0,0001
Error	3,1E-04	6	5,2E-06		
Total	6,2E-04	8			

Test: Duncan**Alfa= 0,05**

Error: 0,0000

gl: 6

Dietas	Medias	n	E.E	
<i>T. officinale</i>	0,0292	3	1,3E-03	A
<i>Spirulina</i>	0,0459	3	1,3E-03	A
<i>Spirulina - T. officinale</i>	0,0279	3	1,3E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 13. Análisis de varianza en función de la variable tiempo (días)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Tiempo	9	0,60	0,47	4,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	230,89	2	115,44	4,54	0,0631
Dietas	230,89	2	115,44	4,54	0,0631
Error	152,67	6	25,44		
Total	383,56	8			

Test: Duncan**Alfa= 0,05**

Error: 25,4444

gl: 6

Dietas	Medias	n	E.E	
<i>Spirulina - T. officinale</i>	106	3	2,91	A
<i>T. officinale</i>	111	3	2,91	A B
<i>Spirulina</i>	118	3	2,91	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 14. Resultados transformación prueba bromatológica

Parámetros	Taraxaco %	Spirulina %	Mix 1-1 %
Agua	97,33	5,12	4,8
Cenizas	0,67	2,8	3,8
Proteína Total	0,44	56,4	36,5
Extracto etéreo	0,11	7,7	6
Fibra Total	0,5	4,2	12,8
Carbohidratos Totales	0,95	23,78	36,1